



**Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Illicium verum* (Hook)**

Acuña López, Daniela Alejandra

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Unidad de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Naranjo Puente, Blanca Fabiola Ms. C.

27 de febrero del 2023

27/2/23, 10:58

Trabajo de titulación Daniela Acuña

## Informe de originalidad

---

### NOMBRE DEL CURSO

Revisión Tesis

### NOMBRE DEL ALUMNO

DANIELA ACUÑA LOPEZ

### NOMBRE DEL ARCHIVO

DANIELA ACUÑA LOPEZ - Tesis Daniela Acuña

### SE HA CREADO EL INFORME

24 feb 2023

## Resumen

Fragmentos marcados	0	0 %
Fragmentos citados o entrecomillados	1	0,1 %

### Coincidencias de la Web

unal.edu.co	1	0,1 %
-------------	---	-------

1 fragmento

Fragmento del alumno CITADO

**Comparar dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando Illicium verum (Hook).**

### Mejor coincidencia en la Web

**Comparar dos métodos de extracción (hidrodestilación y arrastre con vapor de agua) de aceite esencial, utilizando Piper aduncum (cordoncillo) procedente de la ...**

comparación de dos métodos de extracción de aceite <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2624/gloriacristinaalbarracinmontoya.2003.pdf?sequence=1&isAllowed=y>





Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

#### Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: "Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Illicium verum* (Hook)" fue realizado por la señorita Acuña López, Daniela Alejandra, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 27 de febrero del 2023.

Firma:



Naranjo Puente, Blanca Fabiola Ms. C.

C. C: 0602201410



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura  
Carrera de Biotecnología

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Acuña López, Daniela Alejandra**, con cédula de ciudadanía N.º **1725676157**, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Illicium verum* (Hook)** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 27 de febrero del 2023

Firma

**Acuña López, Daniela Alejandra**

C.C.: 1725676157



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

**Autorización de Publicación**

Yo **Acuña López, Daniela Alejandra**, con cédula de ciudadanía N.º 1725676157, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Título: Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando Illicium verum (Hook)** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 27 de febrero del 2023

Firma

**Acuña López, Daniela Alejandra**

C.C.: 1725676157

## Dedicatoria

A mis seres queridos:

A mi esposo Danilo, por su amor incondicional, por su incesante apoyo y comprensión. A mi hijo Miguel, mi mayor motivación para seguir adelante.

A mis padres Marivel y Oswaldo y mi hermana Jessy, que me han dado todo lo que necesito para triunfar y por su apoyo incondicional. A toda mi familia, que me han amado y respaldado sin fin.

Esta tesis es una muestra de mi gratitud por todo el amor y apoyo que me han brindado a lo largo de los años. Muchas gracias por estar siempre ahí para mí.

***Daniela Alejandra Acuña López***

## **Agradecimientos**

Agradezco primero a mi esposo y mi hijo por su amor y apoyo incondicional. Estas palabras no pueden expresar lo agradecida que estoy por el apoyo que me han brindado para que pueda cumplir con mis sueños.

A mis padres, quienes siempre han creído en mí y me han dado la mejor educación para que pueda aspirar a lo más alto. A mi hermana, quien siempre ha sido una fuente de apoyo para mí, y a todos mis familiares.

A mis amigos, Danos, Alice, Misshu, Jessy, Dani, Raque y Leidy por su amistad, sus buenos deseos y siempre estar ahí cuando los necesité en todos estos años.

Mi gratitud también a mi directora de proyecto, Blanca Naranjo Ms.C., por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, por su tiempo, paciencia, apoyo, consejo y dedicación para guiarme a través de este proceso.

A la Dra. María Emilia Medina y el Laboratorio de Microbiología de Suelos por cedernos todas las herramientas necesarias para llevar a cabo los experimentos de mi tesis con éxito.

Por último, todos aquellos que han contribuido de alguna manera para que esta tesis sea posible.

***Daniela Alejandra Acuña López***

## Índice De Contenidos

Resumen .....	17
Abstract .....	18
Capítulo I: Introducción .....	19
Formulación Del Problema .....	19
Justificación o Importancia del Problema por Resolver .....	21
Objetivos .....	22
<i>Objetivo General Del Proyecto</i> .....	22
<i>Objetivos Específicos</i> .....	23
Hipótesis .....	23
Capítulo II: Marco Referencial .....	24
Plantas Medicinales .....	24
<i>Principios Activos</i> .....	24
Taninos .....	25
Glucósidos.....	25
<i>Aceites Esenciales</i> .....	26
Anís Estrellado ( <i>Illicium verum</i> ).....	26
<i>Características Botánicas</i> .....	27
<i>Aceite Esencial (AE)</i> .....	29
Características Químicas .....	29

Aplicaciones .....	31
Detección De Principios Activos .....	31
<i>Métodos Y Aislamiento</i> .....	35
Cromatografía.....	35
Reacciones de coloración .....	38
Alelopatía .....	43
Germinación .....	44
Capítulo III: Metodología .....	46
Obtención De Muestra De <i>Illicium verum</i> (Hook).....	46
Obtención De Material Vegetal.....	46
Método de hidrodestilado.....	46
Método De Maceración .....	47
Cromatografía.....	47
Pruebas de coloración.....	48
Pruebas Alelopáticas .....	48
Diseño Experimental .....	51
Capítulo IV: Resultados.....	52
Obtención Del Aceite Esencial De <i>Illicium Verum</i> (Hidrodestilado).....	52
Obtención Del Extracto De <i>Illicium verum</i> (Maceración).....	55

	10
<b>Cromatografía De Capa Fina</b> .....	56
<b>Pruebas De Coloración</b> .....	57
<b>Efecto Alelopático del Aceite Esencial y Extracto De <i>I. verum</i></b> .....	59
<i>Presencia De Radícula</i> .....	59
<i>Presencia de Hipocótilo en Semillas Germinadas</i> .....	61
<i>Presencia De Hojas Primarias</i> .....	64
<i>Longitud De Raíz Y Tallo En Lechuga</i> .....	66
<i>Longitud De Raíz Y Tallo En Rábano</i> .....	71
<b>Capítulo V: Discusión</b> .....	76
<b>Obtención y Rendimiento del Aceite Esencial y Extracto de <i>Illicium verum</i> (Hook)</b>	76
<b>Análisis Cromatográfico</b> .....	77
<b>Pruebas de Coloración</b> .....	78
<b>Efecto Alelopático</b> .....	79
<b>Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones</b> .....	83
<b>Bibliografía</b> .....	85
<b>Apéndices</b> .....	98

## Índice De Tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Taxonomía de Illicium verum</i> .....	27
<b>Tabla 2</b> <i>Composición química del aceite esencial de I. verum</i> .....	30
<b>Tabla 3</b> <i>Ventajas y desventajas de los métodos de extracción</i> .....	33
<b>Tabla 4</b> <i>Serie eluotrópica según para fase móvil</i> .....	38
<b>Tabla 5</b> <i>Guía de resultados para pruebas de coloración</i> .....	42
<b>Tabla 6</b> <i>Detalle del etiquetado de cajas Petri</i> .....	49
<b>Tabla 7</b> <i>Volumen de aceite esencial obtenido mediante el método de hidrodestilado</i> .....	52
<b>Tabla 8</b> <i>Rendimiento del aceite esencial</i> .....	54
<b>Tabla 9</b> <i>Peso de extracto obtenido por el método de maceración</i> .....	55
<b>Tabla 10</b> <i>R<sub>f</sub> experimentales y teóricos obtenidos de la cromatografía en capa fina de aceite esencial y extracto</i> .....	57
<b>Tabla 11</b> <i>Reacciones de coloración para identificación de grupos funcionales</i> .....	57
<b>Tabla 12</b> <i>Presencia de radícula en semillas de Lechuga y Rábano</i> .....	59
<b>Tabla 13</b> <i>Presencia de hipocótilo en semillas de Lechuga y Rábano</i> .....	62
<b>Tabla 14</b> <i>Presencia de hojas en cubierta seminal en semillas de Lechuga y Rábano</i> .....	64
<b>Tabla 15</b> <i>Medidas de la longitud de raíz en semillas de lechuga con aceite esencial</i> .....	66
<b>Tabla 16</b> <i>Medidas de la longitud de raíz en semillas de lechuga con extracto</i> .....	67
<b>Tabla 17</b> <i>Medidas de la longitud de tallo en semillas de lechuga con aceite esencial</i> .....	68

**Tabla 18** *Medidas de la longitud de tallo en semillas de lechuga con extracto*..... 69

**Tabla 19** *Medidas de la longitud de raíz en semillas de rábano con aceite esencial*..... 71

**Tabla 20** *Medidas de la longitud de raíz en semillas de rábano con extracto*..... 71

**Tabla 21** *Medidas de la longitud de tallo en semillas de rábano con aceite esencial* ..... 73

**Tabla 22** *Medidas de la longitud de tallo en semillas de rábano con extracto* ..... 74

## Índice De Figuras

<b>Figura 1</b> <i>Ubicación del origen de Illicium verum y su calendario de cosecha</i> .....	27
<b>Figura 2</b> <i>Características botánicas de Illicium verum</i> .....	28
<b>Figura 3</b> <i>Esquema de maceración</i> .....	32
<b>Figura 4</b> <i>Esquema del método Soxhlet</i> .....	32
<b>Figura 5</b> <i>Esquema de la cromatografía en capa fina</i> .....	36
<b>Figura 6</b> <i>Esquema para la obtención de a) <math>R_f</math> y b) <math>R_{St}</math></i> .....	37
<b>Figura 7</b> <i>Ilustración de la reacción química para identificación de alcoholes</i> .....	39
<b>Figura 8</b> <i>Ilustración de la reacción química para identificación de aldehídos y cetonas</i> .....	39
<b>Figura 9</b> <i>Ilustración de la reacción química para identificación de aldehídos</i> .....	40
<b>Figura 10</b> <i>Ilustración de la reacción química para identificación de fenoles</i> .....	40
<b>Figura 11</b> <i>Ilustración de la reacción química para identificación de insaturaciones</i> .....	41
<b>Figura 12</b> <i>Ilustración de la reacción química para identificación de hidrocarburos aromáticos</i> .....	42
<b>Figura 13</b> <i>Vías alelopáticas de las plantas</i> .....	43
<b>Figura 14</b> <i>Ilustración de pruebas alelopáticas</i> .....	50
<b>Figura 15</b> <i>Factores para determinar una buena germinación</i> .....	51
<b>Figura 16</b> <i>Curva de eficiencia de obtención de A.E.</i> .....	54
<b>Figura 17</b> <i>Fotografías del análisis cromatográfico</i> .....	56

<b>Figura 18</b> <i>Comparación entre los tratamientos con la presencia de radícula en semillas de lechuga</i> .....	60
<b>Figura 19</b> <i>Comparación entre los tipos de tratamientos con la presencia de radícula en semillas de rábano</i> .....	61
<b>Figura 20</b> <i>Comparación entre los tratamientos con la presencia de hipocótilo en semillas de lechuga</i> .....	62
<b>Figura 21</b> <i>Comparación entre los tratamientos con la presencia de hipocótilo en semillas de rábano</i> .....	63
<b>Figura 22</b> <i>Comparación entre los tratamientos con la presencia de hojas primarias en semillas de lechuga</i> .....	65
<b>Figura 23</b> <i>Comparación entre los tratamientos y la presencia de hojas primarias en semillas de rábano</i> .....	65
<b>Figura 24</b> <i>Comparación entre los tratamientos con la longitud de raíz de lechuga</i> .....	68
<b>Figura 25</b> <i>Comparación entre los tratamientos con la longitud de tallo de lechuga</i> .....	70
<b>Figura 26</b> <i>Comparación entre los tratamientos y la longitud de raíz de rábano</i> .....	72
<b>Figura 27</b> <i>Gráfico comparación entre los tratamientos y la longitud de tallo en rábano</i> .....	75

**Tabla de Fórmulas**

<b>Fórmula 1</b> <i>Expresión para determinar <math>R_f</math></i> .....	37
<b>Fórmula 2</b> <i>Ecuación para determinación del porcentaje de rendimiento</i> .....	46

### Listado de Abreviaturas

**AE:** Aceite esencial.

**CLAE:** Control de lechuga con aceite esencial.

**CLE:** Control de lechuga con extracto.

**CRAE:** Control de rábano con aceite esencial.

**CRE:** Control de rábano con extracto.

**DMSO:** Dimetilsulfóxido.

**LAE:** Lechuga con aceite esencial.

**LE:** Lechuga con extracto.

**mg/mL:** Miligramo por mililitro (concentración)

**Min:** Minuto.

**RAE:** Rábano con aceite esencial.

**RE:** Rábano con extracto.

**R<sub>f</sub>:** Factor de retardo.

## Resumen

En los últimos años, ha existido una preocupación creciente en la población mundial, relacionado con la necesidad de obtener recursos alimenticios a gran escala y reducir el uso y abuso de agroquímicos dañinos para la salud y el planeta. La aplicación de AE de plantas medicinales se está abriendo paso en la agricultura por sus variados beneficios, un ejemplo es el *Illicium verum* o anís estrellado, utilizado ampliamente en diferentes industrias como la alimenticia y farmacéutica, en este trabajo se comprobó los efectos de su actividad frente a la germinación de semillas de interés alimentario. Se compararon dos métodos de extracción de principios activos de *I. verum*, se obtuvo 4.23% de AE mediante hidrodestilación y 21.2% de extracto en acetona por maceración. Se determinó la composición de los dos productos mediante la detección de grupos funcionales presentes en los principios activos y análisis cromatográfico en capa fina. Se determinó la presencia de un mayor número de principios activos en el extracto, entre ellos el acetato de geranilo (monoterpeno); sin embargo, los dos productos presentaron los principales metabolitos secundarios que contiene este fruto:  $\alpha$ -terpineno, linalool, eugenol, p- anisaldehído y anetol. La diferencia en composición influyó en las pruebas de germinación o efecto alelopático sobre semillas de *Lactuca sativa* L. (lechuga) y *Raphanus sativus* L. (rábano). En este ensayo, se analizó los siguientes factores: radícula, hipocótilo, hojas primarias; además longitud de raíz y tallo a los 14 días. El resultado con lechuga mostró que es mejor usar AE, tanto en los factores de germinación como en el promedio de las longitudes de raíz y tallo a 0.3 mg/mL. Y en el ensayo con rábano el mejor resultado en el análisis de los factores fue con extracto, pero en las longitudes fue favorable usando AE a 0.3 mg/mL. A pesar de que estos resultados no igualan al control, si mejora su aspecto, por lo que su uso no afecta a el desarrollo de las plantas y puede inhibir el crecimiento de malezas y plagas como mencionan estudios previos.

*Palabras clave:* Aleopatía, anís estrellado., *Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., R<sub>f</sub>.

### Abstract

In recent years, there has been a growing concern in the world population, related to the need to obtain food resources on a large scale and reduce the use and abuse of agrochemicals harmful to health and the planet. The application of EO from medicinal plants is gaining ground in agriculture due to its varied benefits, an example is *Illicium verum* or star anise, widely used in different industries such as food and pharmaceuticals, in this work the effects of its activity against the germination of seeds of food interest were tested. Two methods of extraction of active principles of *I. verum* were compared; 4.23% of EO was obtained by hydrodistillation and 21.2% of extract in acetone by maceration. The composition of the two products was determined by detection of functional groups present in the active principles and thin layer chromatographic analysis. The presence of a greater number of active principles in the extract was determined, including geranyl acetate (monoterpene); however, the two products presented the main secondary metabolites contained in this fruit:  $\alpha$ -terpinene, linalool, eugenol, *p*- anisaldehyde and anethole. The difference in composition influenced germination tests or allelopathic effect on seeds of *Lactuca sativa* L. (lettuce) and *Raphanus sativus* L. (radish). In this trial, the following factors were analyzed: radicle, hypocotyl, primary leaves, as well as root and stem length at 14 days. The result with lettuce showed that it is better to use EO, both in germination factors and in the average root and stem length at 0.3 mg/mL. And in the trial with radish the best result in the analysis of the factors was with extract, but in the lengths it was favorable using EO at 0.3 mg/mL. Although these results do not equal the control, it does improve its appearance, so its use does not affect plant development and can inhibit the growth of weeds and pests as mentioned in previous studies.

*Key words:* Allelopathy, star anise, *Lactuca sativa* L., *Raphanus sativus* L., Rf.

## Capítulo I: Introducción

### Formulación Del Problema

En los últimos años, se ha visto un notable cambio en el número de la población mundial, el que ha ido en aumento, y según información proporcionada por la Organización de las Naciones Unidas (ONU) se predice que en este mismo año se alcance los 8.000 millones de habitantes en el planeta, mientras que se estima para el año 2030 se va a llegar a los 8.500 millones de personas, y se bordeará los 9.700 millones en 2050. Esta organización también prevé que en las décadas del 2080 al 2100 se puede alcanzar un pico máximo con un alrededor de 10.400 millones de personas (ONU, 2022).

En conjunto con el inminente aumento en la población mundial, se incrementa el problema que desde hace muchos años se ha dado principalmente en potencias mundiales que presentan sobrepoblación, como en la India o en China (ONU, 2022), y en países en desarrollo donde hay una creciente demanda de alimentos para abastecer todas las necesidades que tiene la población en este aspecto.

Se estima que para este año (2023) el país que va a registrar mayor población es la India, que llegará a sobrepasar a los habitantes de China, este rápido crecimiento preocupa debido a que es un factor, difícil de controlar, lo que provocaría demandas económicas, principalmente en los continentes africano y asiático. En Latinoamérica y en el Caribe también se ha constatado un incremento de cuatro veces en su población desde 1950 hasta 2022 (ONU, 2022).

En Ecuador, se han registrado una mayor tasa de natalidad y a su vez la entrada de inmigrantes en el territorio nacional, que está próximo a alcanzar los 18 millones de habitantes, esta alza demográfica implicaría, como en los territorios mencionados, un

problema adjunto que es el incremento de la necesidad de producción de alimentos para satisfacer las necesidades que presentan.

La población ecuatoriana basa la mayor parte de su dieta en productos agrícolas, como legumbres, verduras, entre otros, por lo que, para futuros años se debe considerar una mayor producción de alimentos que los que se producen en la actualidad; sin embargo, al querer incrementar la producción se debe tener en cuenta que puede ser afectada la composición del suelo, el uso de pesticidas e insecticidas persistentes y el uso indiscriminado de fertilizantes químicos.

Algunos productos, como lechuga y rábano, que tienen ciclos cortos de producción (Alemán et al., 2018a), son preferidos por los ecuatorianos; sin embargo, en el caso de los cultivos de lechuga, suele tener una alta dosis de fertilizantes químicos para llegar a obtener un rendimiento aceptable para abastecer el mercado (Alemán et al., 2018b), pero no siempre se considera los costos y la afectación al medio ambiente (Alemán et al., 2014).

Una alternativa que se puede considerar para la reducción o eliminación del uso de fertilizantes químicos son propuestas más ecológicas como el efecto alelopático que presentan las plantas, y en conjunto con otros factores como la disposición de nutrientes (Maldonado & Encalada, 2008), se cumpliría con este objetivo.

Las plantas atraen, resisten e inhiben a otros organismos produciendo sustancias químicas especiales, llamadas metabolitos secundarios o principios activos, con los cuales recompensan su incapacidad de moverse.

La composición química de los metabolitos secundarios que poseen las plantas presentan múltiples beneficios para sí mismas como para su alrededor, entre los destacados son sus respuestas a factores bióticos o abióticos, como las sequías, falta de nutrientes, altitud del suelo, plagas, herbívoros, entre otros; ya que, pueden tener efectos antimicrobianos, antifúngicos, herbicidas, entre otros, y como comunicación con el entorno

con sustancias alelopáticas que influyen en la supervivencia y crecimiento de otros organismos en su alrededor. Estos principios activos pueden ser diferenciados entre grupos taxonómicos, por lo que pueden desempeñar diferentes funciones ecológicas o presentar diversas características para su uso o aplicación (Ávalos & Pérez, 2009).

### **Justificación o Importancia del Problema por Resolver**

Ante el posible riesgo de que exista una sobrepoblación en los próximos años, los cambios que se deben dar para alcanzar la producción de alimentos y abastecer a todos los habitantes es cada vez más importante, la alta demanda ha llegado a priorizar la rapidez con la que se obtienen alimentos de gran interés comercial y la preocupación por el uso de fertilizantes químicos que afecten al medio ambiente, han generado la necesidad de establecer nuevas estrategias que permitan reducir el uso de estos agroquímicos, pero sin afectar a la estabilidad que requiere para su crecimiento.

Desde la antigüedad, las plantas medicinales han contribuido en el desarrollo del ser humano y han cubierto sus necesidades, hasta el día de hoy su uso se ha extendido por los principios activos que contienen, y están presentes en alrededor del 50% de los medicamentos de consumo actual (Newman & Cragg, 2012); además de otras aplicaciones, ya que los metabolitos secundarios presentan una amplia gama de beneficios que pueden ser aprovechados por los seres humanos (Soto Vásquez, 2019).

Entre los principios activos más estudiados y utilizados son los aceites esenciales (AE), puesto que son una mezcla de hidrocarburos saturados y no saturados, ésteres, cetonas, alcoholes, fenoles, aldehídos, éteres y terpenos (mono y sesquiterpenos) (Montoya, 2010), este conjunto de moléculas presenta una alta volatilidad (Ali et al., 2015) y cumplen un importante rol en el ecosistema; además, se les atribuye la capacidad de prevenir o disminuir síntomas asociados a la salud, y también son utilizados en las industrias alimenticia, farmacéutica, se pueden utilizar para preparar bioproductos como

plaguicidas, herbicidas, fungicidas, desinfectantes, entre otros, y pueden ser empleados como potenciales bioestimulantes sobre plantas de interés comercial debido al efecto alelopático que ejercen.

El aceite esencial que se obtiene de *Illicium verum* (Hook) también conocido como anís estrellado, es destacado por ser atóxica, a la que se le da diferentes usos, como: eupéptico, carminativo, expectorante, diurético, antimicrobiano y antiséptico (Huang et al., 2010), estas cualidades le han permitido ser utilizado en la industria alimenticia para condimentar diferentes productos a quienes les confiere estas propiedades y además, se ha convertido en una alternativa en el campo agrícola de ser considerado un potencial fertilizante natural, que influye en el crecimiento de plantas de uso comercial (Maldonado & Encalada, 2008).

Algunos estudios indican que los efectos que produce el aceite esencial extraído del anís estrellado (*Illicium verum*, Hook) se debe a su composición química y a sus propiedades, convirtiéndose en una influencia alelopática con otras plantas (Hierro & Callaway, 2021), acelerando o retardando el proceso de germinación de semillas, esta propiedad se convierte en una alternativa de interés principalmente en mayor producción de alimentos de origen vegetal o retardando el crecimiento de malezas (Hierro & Callaway, 2021; Zhu et al., 2021).

## **Objetivos**

### ***Objetivo General Del Proyecto***

Comparar dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Illicium verum* (Hook).

### **Objetivos Específicos**

- Obtener el aceite esencial de *Illicium verum* (Hook), mediante hidrodestilación y maceración.
- Determinar el rendimiento de la extracción del aceite esencial de *Illicium verum* (Hook) obtenido por los dos métodos de extracción.
- Analizar la composición química del aceite esencial de *Illicium verum* (Hook) mediante cromatografía de capa fina y reacciones de coloración.
- Analizar el efecto alelopático de los aceites esenciales de *Illicium verum* (Hook) obtenidos por dos métodos analíticos en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. (rábano) y *Lactuca sativa* L. (lechuga).

### **Hipótesis**

Al comparar los métodos de extracción de aceite esencial de *Illicium verum* (Hook) mediante hidrodestilación y maceración se obtiene una diferencia estadísticamente significativa en su rendimiento y composición química que se ve reflejado en el efecto alelopático aplicado a la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. (rábano) y *Lactuca sativa* L. (lechuga).

## Capítulo II: Marco Referencial

### **Plantas Medicinales**

Desde que se tiene conciencia de los beneficios que poseen las plantas medicinales, se les ha dado uso en diferentes ámbitos que sean útiles para el ser humano, y aunque solo se ha investigado a profundidad alrededor del 10% de estas plantas, aplicando diferentes métodos modernos como la cromatografía, fotometría, uso de isótopos (Rosselló & Armitt, 2016), entre otros, se ha encontrado en cada una de ellas una amplia gama de compuestos con las cuales se protegen y se comunican con su entorno, y que a la vez son de ayuda para el hombre (principios activos), entre estos se pueden mencionar a los taninos, alcaloides, fenoles, aceites esenciales y otros.

Se dice que fue en Grecia donde se tuvo las primeras recopilaciones botánicas, referentes a las plantas medicinales, aunque en Egipto y en la Medicina tradicional china ya se conocía una gran cantidad de plantas con beneficios (700 y 7000 especies respectivamente) (Rosselló & Armitt, 2016). En aquellos tiempos ya se usaba el hinojo, lino, ajo, ricino, arce, belladona para los espasmos viscerales y asma bronquial, cannabis para el insomnio o bronquitis.

### ***Principios Activos***

Son compuestos orgánicos biosintetizados por diferentes organismos, pero principalmente por las plantas. Poseen estructuras variables que pueden ser de distribución restringida o generalizada, y cumplen la función de comunicación con diferentes organismos y el medio ambiente. Estos principios activos son aprovechados por los seres humanos, debido a la amplia actividad biológica que poseen.

Las propiedades curativas de las plantas medicinales se deben a la producción y acumulación de sustancias consideradas principios activos, estos son subproductos obtenidos del metabolismo secundario (Rosselló & Armitt, 2016).

### **Taninos**

Son compuestos químicos ácido-fenólicos con una estructura compleja, que puede clasificarse entre taninos hidrosolubles y condensados, los hidrosolubles se caracterizan por tener un núcleo central de glucosa esterificada con ácido gálico, por lo que pueden formar compuestos coloidales, y los condensados o proantocianidinas son oligómeros o polímeros de flavan-3-ol (Alara et al., 2021).

Los taninos se los pueden encontrar acumulados principalmente en las raíces y corteza de las plantas. Se suelen utilizar estas partes de las plantas para el tratamiento de anginas, inflamación de encías, en heridas, hemorroides, inflamación cutánea y diarreas. Poseen un sabor amargo y son astringentes, al contacto con el aire pueden descomponerse con gran rapidez (Rosselló & Armitt, 2016).

### **Glucósidos**

También conocidos como glicósidos, se pueden clasificar en cianógenos, antraquinónicos, fenólicos, principios amargos (alcíbar), sudoríficos, saponínicos, cumarínicos y flavónicos, que cumplen con la función de proteger a la planta cuando es sometida a estrés (Rosselló & Armitt, 2016).

Los glucósidos cianógenos pueden ser altamente tóxicos cuando se descomponen en ácido cianhídrico; los antraquinónicos pueden contribuir con una acción laxante; los saponínicos tienen la propiedad de producir gran cantidad de espuma, y pueden causar hemólisis, pero ayuda en la expectoración; los cumarínicos son característicos por su olor y la formación de cumarinas al descomponerse los glucósidos, esto pueden usarse como

anticoagulantes; y los flavónicos o también conocidos como bioflavonoides o flavonoides son conocidos por sus efectos como antioxidantes para combatir los radicales libres que provocan enfermedades y el envejecimiento (Alara et al., 2021; Rosselló & Armit, 2016).

### ***Aceites Esenciales***

Los aceites esenciales son un conjunto de compuestos orgánicos donde se pueden encontrar aldehídos, alcoholes, cetonas, éteres, ésteres, fenoles, terpenoides (monoterpénicos y sesquiterpénicos) altamente volátiles, fundamentales para la comunicación interespecies.

La cantidad de aceite esencial que puede llegar a poseer una planta puede verse afectado por las condiciones abióticas como: clima, estación del año, la edad de la planta y como se procese la muestra desde su recolección.

Casi siempre los aceites esenciales cuentan con un aroma fuerte debido a que posee múltiples sustancias volátiles, por lo que se debe tener sumo cuidado durante el procesamiento de la muestra, el secado debe realizarse evitando la luz ultravioleta y con ventilación constante para que el rendimiento no se vea afectado, así como sus propiedades antiinflamatorias, expectorante, diurética, antiespasmódica, antibacteriano y antivírica (Huang et al., 2010).

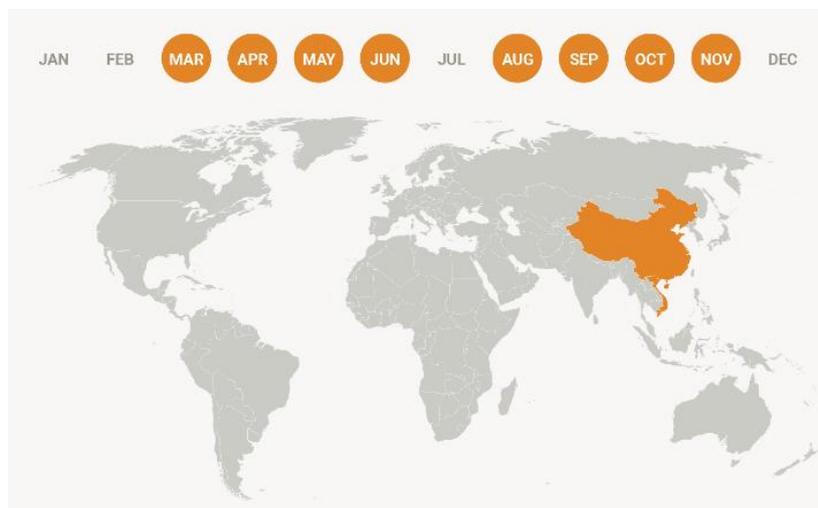
### **Anís Estrellado (*Illicium verum*)**

*Illicium verum* es el fruto del árbol badián o badiana, una planta originaria de China y Vietnam (Sharafan et al., 2022) (Figura 1), utilizada en la medicina tradicional, y en la actualidad conocida a nivel mundial como medicina natural, en las industrias alimenticia y farmacéutica (Huang et al., 2010; Sharafan et al., 2022)

Tanto el fruto como su aceite esencial poseen actividad biológica importante como el efecto antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio y antioxidante (Cheng, 2012).

### Figura 1

*Ubicación del origen de Illicium verum y su calendario de cosecha.*



*Nota.* Tomado de *Star Anise* por Nedspice Group, 2020.

### **Características Botánicas**

La familia a la que pertenece el anís estrellado es *Illiciaceae* (Badianaceae) (Sharafan et al., 2022) (Tabla 1), es un arbusto de hojas perennes, puede llegar a medir entre 8 y 15 metros de altura, posee una corteza de color blanco o gris claro, hojas verdes claras, lanceoladas, coriáceas y alternas (6 a 12 cm de largo), sus flores son solitarias, bisexuales, blanco amarillento o verdoso (1 a 7 cm de diámetro) y sus frutos tienen la característica forma de estrella, de allí su nombre comercial, posee entre 6 a 10 folículos en forma de cápsula con una semilla marrón brillante y liso, en su interior (Sharafan et al., 2022) (Figura 2).

### **Tabla 1**

*Taxonomía de Illicium verum*

---

## Taxonomía

---

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Austrobaileyales
Familia	Illiciaceae
Género	<i>Illicium</i>
Especie	<i>I. verum</i> Hook.

---

*Nota.* Elaborado a partir de *Illicium verum*: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology de Wang, G. W., Hu, W. T., Huang, B. K., & Qin, L. P., 2011. *Journal of Ethnopharmacology*.

### Figura 2

*Características botánicas de Illicium verum*



*Nota.* Tomado de Anís de Soler, J., 2013.

### ***Aceite Esencial (AE)***

El aceite esencial obtenido del anís estrellado tiene aplicaciones en diferentes campos industriales, por sus propiedades organolépticas (agradable aroma y dulce sabor) y efectos curativos.

Por sus propiedades relacionadas con su alto contenido de *trans*- anetol, es ampliamente empleado en aplicaciones tópicas para tratamiento de reumatismos, otalgia y como antiséptico (Cheng, 2012), y también es empleado en la cosmetología, por sus características antioxidantes, antiinflamatorias y ayuda con la obesidad (Sharafan et al., 2022).

### **Características Químicas**

Los compuestos químicos más representativos que se encuentran en *I. verum* son fenilpropanoides, flavonoides, neolignanósidos, monoterpénoides y sesquiterpenoides (Sharafan et al., 2022).

La combinación de *trans*- anetol, *p*- anisaldehído, farnesol y estragol hace que tenga su aroma dulce característico (W. Zhang et al., 2015). En la fruta de *I. verum* se han identificado flavonoides, como kaempferol, quercetina y sus glucósidos, ácido shikímico (G. W. Wang et al., 2011), ácidos grasos como el ácido linoleico, esteárico y mirístico (Patra et al., 2020) y el alquilglucósido R -sec-butil- d – glucopiranosido (G. W. Wang et al., 2011).

Sin embargo, los principales componentes que se pueden encontrar en el aceite esencial de *I. verum* son *trans*- anetol, limoneno, linalool y  $\alpha$ - pineno (Cheng, 2012; Z. Wang et al., 2006).

Entre los compuestos que se pueden encontrar en el aceite esencial de *Illicium verum* el *trans*- anetol es el fenilpropanoide que tiene mayor parte de la composición en

alrededor del 72 al 92%, por lo que depende del método de extracción que se utilice, como por ejemplo 70.61% (extracción con solvente), 77.31% (extracción con fluido supercrítico) y 74.96% (destilación con vapor) (Q. Wang et al., 2007). Entre otros compuestos que se pueden encontrar en el aceite esencial se clasifican en la Tabla 2.

**Tabla 2**

*Composición química del aceite esencial de *I. verum*.*

<b>Metabolito secundario</b>	<b>Compuestos</b>	<b>Referencia</b>
Compuestos fenólicos	<i>Trans</i> -anetol, <i>cis</i> -anetol, estragol	(Luís et al., 2019)
Monoterpenos	$\alpha$ -pineno, p-cimeno, limoneno, linalool, terpinen-4-ol, $\alpha$ -terpineol, eugenol, $\gamma$ -terpineol, $\sigma$ -3-careno, canfeno, $\beta$ -mirceno, <i>trans</i> - ocimeno, terpinoleno, $\gamma$ -terpineno	(Huang et al., 2010; Patra et al., 2020)
Sesquiterpenos	$\alpha$ -felandreno, $\alpha$ -muuroleno, $\beta$ -cariofileno, $\alpha$ -copaeno, <i>trans</i> - $\alpha$ -bergamoteno, foeniculina, $\beta$ -elemeno, cipereno, $\alpha$ -cariofileno, (+)-9-epiledeno, cubebeno	(Huang et al., 2010; Patra et al., 2020)
Flavonoides	<i>Trans</i> -chalcona	(Scopel et al., 2016)
Aldehídos	<i>p</i> -anisaldehído	(Patra et al., 2020; Scopel et al., 2016)
Otros	Anisóxido, 2-(1-ciclopentenil)-furano, tiocianoacetato de isobornilo	(Huang et al., 2010)

*Nota.* Tomado y modificado de Illicium verum (Star Anise) and Trans-Anethole as Valuable Raw Materials for Medicinal and Cosmetic Applications de Sharafan, M., Jaferník, K., Ekiert, H., Kubica, P., Kocjan, R., Blicharska, E., & Szopa, A., 2022, *Molecules*.

### **Aplicaciones**

Algunas de las actividades biológicas confirmadas de *I. verum* es su acción antibacteriana frente a *Acinetobacter baumannii* (Luís et al., 2019), *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* y *Estafilococo aureus* (Sabry et al., 2021); antifúngica frente a *Alternaria solani*, *Bipolaris maydis*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* F. sp. *cucumerinum*, *Magnaporthe oryzae*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia cerealis* y *Rhizoctonia solani* (Huang et al., 2010), entre otras, en donde los autores recalcan que este efecto se debe a la presencia de *trans*- anetol (Sharafan et al., 2022).

### **Detección De Principios Activos**

Los métodos de extracción convencionales no suelen ser idealmente consistentes, ya que dependen principalmente del investigador; además que utiliza un volumen mayor de solventes para realizar la extracción (Alara et al., 2021).

Entre los métodos convencionales más utilizados se describen a la extracción sólido-líquido (SLE) o extracción soxhlet, extracción líquido-líquido (LLE) y maceración (Alara, Abdurahman, & Ukaegbu, 2018; Alara, Abdurahman, Ukaegbu, et al., 2018).

El método de maceración consiste en el remojo de la muestra en un solvente apropiado, por lo que se considera también como una extracción sólido-líquido (Lefebvre et al., 2021), para que los componentes de interés sean extraídos, esto se lo realiza en un sistema cerrado y con agitación esporádica o constante a temperatura ambiente desde tres días a semanas, según los compuestos que se quiera extraer (Olejar et al., 2015) (Figura 3).

### Figura 3

*Esquema de maceración.*

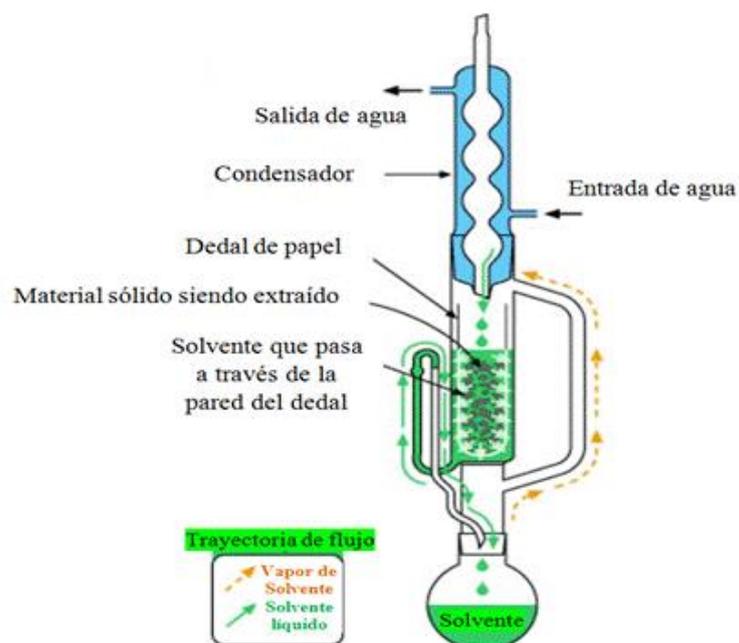


*Nota.* Elaborado en el programa BioRender.com

El método Soxhlet por su parte, realiza la extracción de la muestra colocada en dedales de celulosa que se encuentra en su cámara de extracción, junto con el solvente que se desfoga en el balón conectado en la parte inferior en una manta de calentamiento (Azwanida, 2015) (Figura 4).

### Figura 4

*Esquema del método Soxhlet*



*Nota.* Tomado de Obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto del caruto (*Genipa americana* L.) de Rivas, A., & Lárez, C., 2014.

Algunos de los solventes más utilizados para este procedimiento son: metanol, etanol, agua, cloroformo, n-hexano, propanol, acetato de etilo y acetona (Q.-W. Zhang et al., 2018). Se puede utilizar diferentes solventes, la selección depende de la polaridad de las moléculas que se desean extraer, sin que reaccionen con los compuestos orgánicos que se van a obtener (Q.-W. Zhang et al., 2018).

Actualmente, existen métodos de extracción no convencionales más eficientes que los métodos convencionales.

Los métodos no convencionales incluyen la extracción con líquido presurizado (PLE), extracción con agua subcrítica (SWE), fluido supercrítico (SFE), extracción asistida por microondas (MAE), extracción en fase sólida (SPE), extracción asistida por ultrasonido (UAE), alta presión hidrostática (HHPE), extracción líquido-líquido sobre soporte sólido (SSLLE), dispersión de matriz en fase sólida (MSPD) y cromatografía en contracorriente (CCC) (Alara et al., 2021; Lefebvre et al., 2021).

No obstante, tanto los métodos convencionales como los no convencionales presentan ventajas y desventajas (Tabla 3) que se deben tomar en cuenta para elegir el mejor método según los objetivos que tenga el investigador.

**Tabla 3**

*Ventajas y desventajas de los métodos de extracción*

<b>Método</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Hidrodestilación (HD)	Económico y fácil ensamblaje	Altas temperaturas, degradación térmica, elimina

Método	Ventajas	Desventajas
Destilación con vapor (SD)	Proceso reducido frente a HD, minimiza la pérdida de compuestos polares, ahorro de energía, limita las modificaciones por oxidación	algunos componentes, proceso lento Bajo rendimiento, tiempo prolongado, temperaturas elevadas, modificación química de componentes, pérdida de moléculas volátiles
Hidrodestilación asistida por microondas (MAHD)	Calentamiento más efectivo, rápida transferencia de energía, menor tiempo de extracción y consumo de energía y CO <sub>2</sub>	Menos rendimiento, biodegradación de los componentes del aceite
Extracción por microondas sin disolventes (SFME)	Energía y tiempo reducidos, protección de componentes termolábiles, menos emisión de CO <sub>2</sub> , usa cualquier solvente orgánico	Debe usarse solo muestras vegetales secas, no es adecuado para la industria
Soxhlet	No requiere mucha inversión, alto rendimiento, mejora la eliminación del analito de la matriz, exceso de calor ayuda a aumentar la cinética de extracción	Tiempo de 1 a 72 h, analitos concentrados antes, no es selectiva, solventes orgánicos caros, tóxicos y puros, pérdida por degradación térmica y volatilización

<b>Método</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Disolventes orgánicos	Relativamente simple, produce gran cantidad de aceite esencial	Largo tiempo de extracción, alto consumo de disolvente, residuos tóxicos, poca reproducibilidad
Extracción con fluido supercrítico (SFE)	Presión y temperatura bajas, alto rendimiento y pureza, tiempo de extracción corto, no tóxico ni inflamable, recupera más compuestos que HD	Técnica costosa, equipo de uso difícil, tasa de extracción relativamente lenta
Hidrodestilación generada por microondas (MGH) y Hidrodifusión por microondas y gravedad (MHG)	Reducción del tiempo de extracción, menos consumo energético, no usa disolvente, mejor producción de aroma natural	Potencia baja no se recupera todo el aceite, potencia alta quema la muestra o causar pirólisis

*Nota.* Tomado de Basil Essential Oil: Methods of Extraction, Chemical Composition, Biological de da Silva, W. M. F., Kringel, D. H., de Souza, E. J. D., da Rosa Zavareze, E., & Dias, A. R. G., 2022.

### **Métodos Y Aislamiento**

#### **Cromatografía**

Uno de los principales métodos para el aislamiento de principios activos de muestras incluye métodos cromatográficos (Sánchez et al., 2020), debido a que es una herramienta adecuada para la caracterización de muestras (Silva Sofrás & Desimone, 2022).

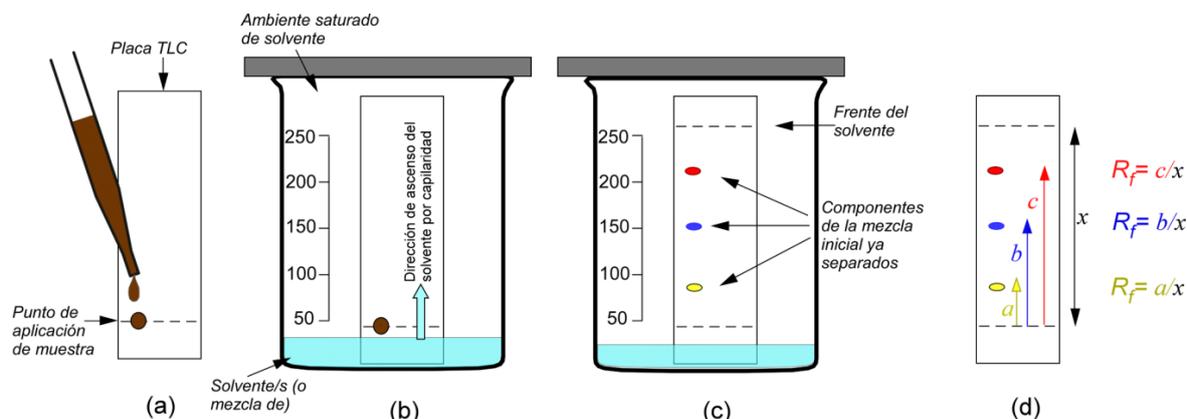
Los métodos cromatográficos más utilizados para el aislamiento son la cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPLC), cromatografía líquida de ultra rendimiento-espectrometría de masas (UPLC-MS), cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía en capa fina (TLC) (Khan et al., 2021).

### Cromatografía en Capa Fina (TLC)

El principio en el que se basa este método es en el arrastre, por una fase móvil, de una sustancia disuelta aplicada en una fase estacionaria, de esta forma se pueden separar las sustancias de afinidad parecida por ambas fases (Bauer et al., 1992a) (Figura 5).

**Figura 5**

*Esquema de la cromatografía en capa fina.*



*Nota.* a) Aplicación de la muestra, b) Arrastre de la fase móvil por capilaridad, c) Separación de sustancias de la muestra y d) Determinación del factor de retención ( $R_f$ ). Tomado de La Cromatografía En Capa Fina: Una Alternativa Vigente En La Industria Farmacéutica de Vallejo, Y., Barrios, L., & Anaya, J., 2021.

Existen parámetros que describen la eficacia que tiene la separación de las sustancias, pueden ser expresados como factor de retardo ( $R_f$ ), que aporta valores menores

o igual a 1 (Figura 6a), además se determina con la fórmula 1, y se puede utilizar sustancias idénticas como patrón (Bauer et al., 1992b) (Figura 6b).

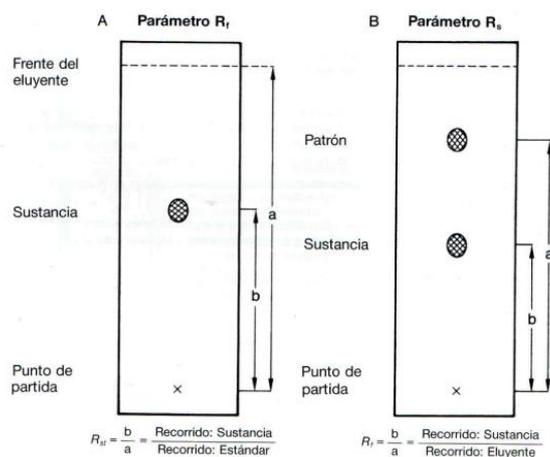
### Fórmula 1

Expresión para determinar  $R_f$ .

$$R_f = \frac{\text{Distancia entre el punto de partida y la mancha de la sustancia}}{\text{Distancia entre el punto de partida y el frente del eluyente}}$$

### Figura 6

Esquema para la obtención de a)  $R_f$  y b)  $R_{st}$ .



*Nota.* Tomado de Cromatografía de Capa Fina -Una Introducción- de Bauer, K., Gros, L., & Sauer, W., 1992c. Mitterweger Werksatz

Los componentes de la cromatografía de capa fina son la fase estacionaria y la fase móvil. La composición de la *fase estacionaria* se clasifica en fases polares (hidrofílica) o normales y en fases apolares (hidrofóbicas) o reversas. La *fase móvil o eluyente* (Tabla 4) depende de la fase estacionaria que se use, y de la muestra a analizar, si es polar se combina con sustancias no polares y viceversa (Bauer et al., 1992d).

Las fases estacionarias más utilizadas son gel de sílice, gel de sílice modificado, óxido de aluminio y celulosa, estos varían en su porosidad y composición, es decir, según su diámetro y estreches, mejor será su eficiencia para la separación (Bauer et al., 1992d).

**Tabla 4**

*Serie eluotrópica según para fase móvil*

<b>Serie eluotrópica</b>	<b>Índice de polaridad según Snyder*</b>	<b>Constante dieléctrica CD (20-25 °C)</b>	<b>Masa molar [g/mol]</b>	<b>Punto de ebullición [°C]</b>	<b>Presión de vapor [mbar] (20 °C)</b>
n-hexano	0.0	1.9	86.18	68.9	160
Cloroformo	4.4	4.8	119.38	61.7	210
2-propanol	4.3	18.3	60.10	82.4	43
Acetato de etilo	4.3	6.0	88.10	77.1	97
Acetona	5.4	20.7	58.08	56.2	233
Etanol	5.2	24.3	46.07	78.5	59
Metanol	6.6	32.6	32.04	65.0	128
Agua	9.0	80.2	18.01	100.0	23

*Nota.* Serie eluotrópica: Lista de compuestos ordenados de forma ascendente según su poder de elución para una fase estacionaria determinada (Kripkit, 2023). \*(Bauer et al., 1992c; Snyder, 1974). Tabla tomada y modificada de Cromatografía de Capa Fina -Una Introducción- de Bauer, K., Gros, L., & Sauer, W., 1992c. Mitterweger Werksatz.

### **Reacciones de coloración**

La metodología que se aplica en las reacciones de coloración son las reacciones redox que se producen entre los reactivos que se utilizan y los metabolitos secundarios que tiene la muestra (Symma & Hensel, 2022).

Estas pruebas aportan información cualitativa de la muestra vegetal; además que su ventaja es principalmente que los resultados obtenidos son inmediatos; sin embargo, una desventaja es que, si bien exhibe los grupos funcionales que contiene la muestra, no es específica para identificar compuestos.

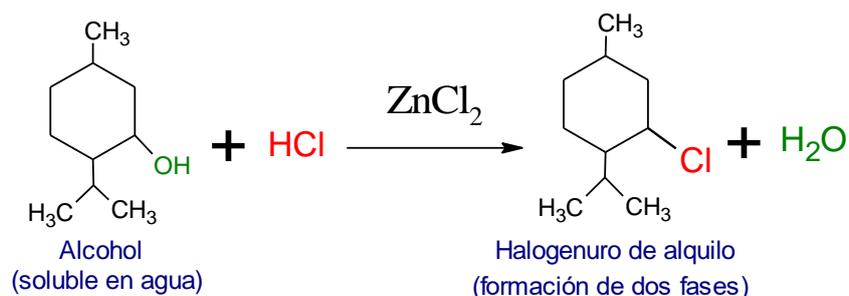
Algunas de las pruebas de coloración que se pueden realizar para estas identificaciones son:

### **Identificación de Alcoholes (reactivo de LUCAS)**

La identificación de alcoholes se da por la sustitución del hidroxilo (OH-) por el halógeno (Cl-) (Mahmood, 2015) (Figura 7).

**Figura 7**

*Ilustración de la reacción química para identificación de alcoholes*



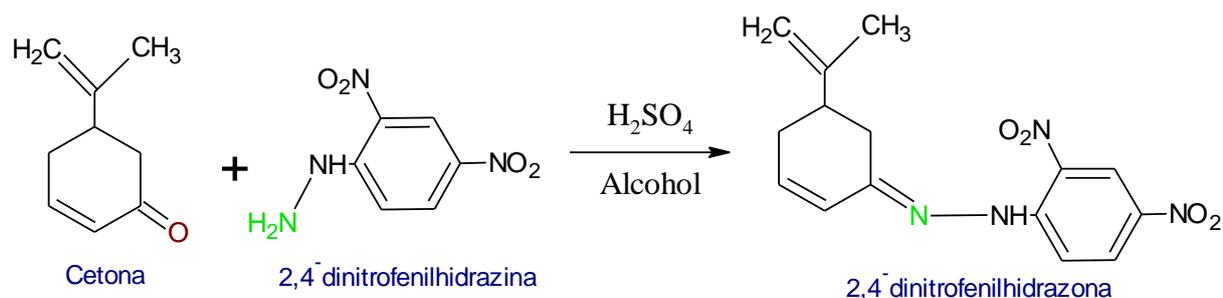
*Nota.* Esquema elaborado en el programa ChemSketch.

### **Identificación de Aldehídos y cetonas (reactivo de BRADY)**

El oxígeno correspondiente de aldehídos y cetonas reaccionan con el reactivo 2,4-dinitrofenilhidrazina (BYJU'S, 2020) (Figura 8).

**Figura 8**

*Ilustración de la reacción química para identificación de aldehídos y cetonas*



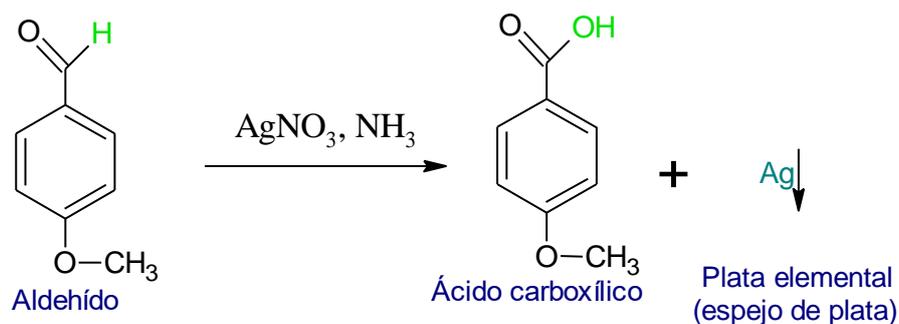
Nota. Esquema elaborado en el programa ChemSketch

### Identificación de Aldeídos (reactivo de TOLLENS)

Consiste en oxidar los aldeídos con el reactivo de tollens (Naranjo, 2019) (Figura 9).

#### Figura 9

Ilustración de la reacción química para identificación de aldeídos



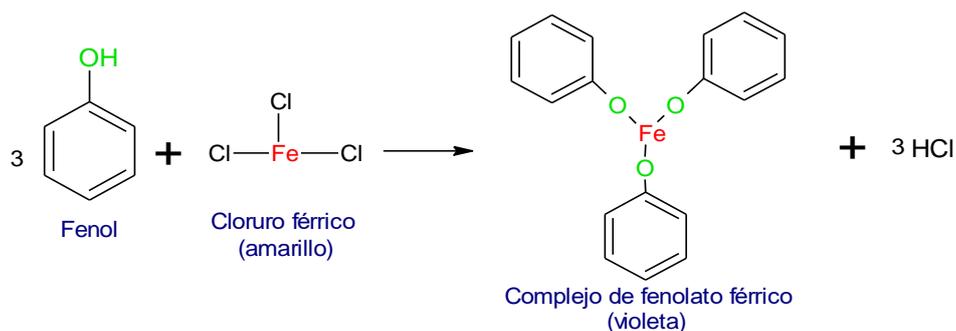
Nota. Esquema elaborado en el programa ChemSketch.

### Identificación de Fenoles

Se identifican los fenoles con una solución de cloruro férrico, donde el hierro del reactivo forma complejos de coordinación con los fenoles (Naranjo, 2019) (Figura 10).

#### Figura 10

Ilustración de la reacción química para identificación de fenoles



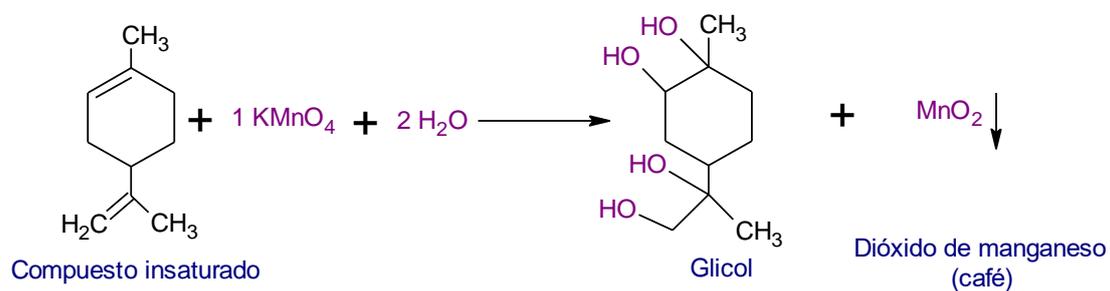
Nota. Esquema elaborado en el programa ChemSketch.

### Identificación de Insaturaciones

La prueba de Baeyer se usa para la identificación de enlaces C-C insaturados (alquenos o alquinos), al poner en contacto una solución de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ), las insaturaciones forman glicoles y el resultado es el cambio de coloración (LabsterTheory, 2021) (Figura 11).

Figura 11

Ilustración de la reacción química para identificación de insaturaciones



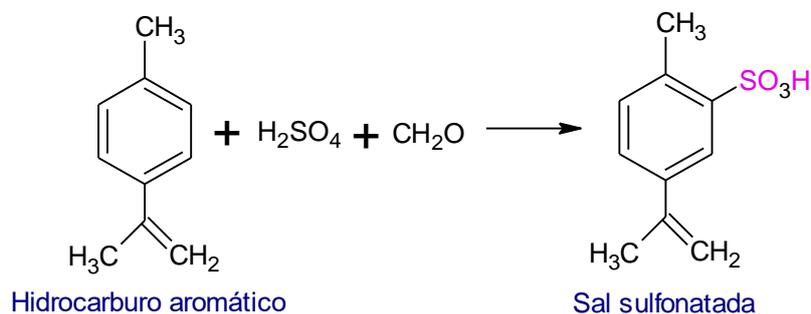
Nota. Esquema elaborado en el programa ChemSketch.

### Identificación de Hidrocarburos aromáticos

La identificación se realiza con la adición de formaldehído y una solución de ácido sulfúrico (Naranjo, 2019) (Figura 12).

Figura 12

Ilustración de la reacción química para identificación de hidrocarburos aromáticos



Nota. Esquema elaborado en el programa ChemSketch.

Los resultados que se obtienen de las pruebas de coloración se presentan en la tabla 5.

Tabla 5

Guía de resultados para pruebas de coloración

Prueba	Grupo funcional	Resultado	
		Positivo	Negativo
Lucas	Alcoholes	<i>A. primario</i> : solución transparente. <i>A. secundarios</i> : produce turbidez (3-5 minutos). <i>A. terciario</i> : turbidez inmediata. <i>Haluro de alquilo</i> : separa en fases	Sin cambio
		Precipitados: <i>Rojos</i> : presencia de carbonilos aromáticos. <i>Anaranjados</i> : carbonilos α-β insaturados. <i>Amarillos</i> : carbonilos saturados	Sin cambio
Brady	Aldehídos y cetonas		
Tollens	Aldehídos	Precipitado negro y espejo de plata	Sin cambio

Prueba	Grupo funcional	Resultado	
		Positivo	Negativo
Fenoles	Fenol	Coloración violeta	Sin cambio
Insaturaciones	Doble enlace	Precipitado café	Sin cambio
Hidrocarburos aromáticos	Anillo aromático	<i>Rosa, anaranjado o rojo:</i> Derivados del benceno. <i>Azul-verdoso o verde:</i> Derivados del naftaleno	Sin cambio

*Nota.* Elaborado a partir de Identification Methods Of Unknown de Mahmood, N., 2015, y Identificación De Los Componentes De Aceites Esenciales E Hidrodestilado De Especies Vegetales Por Cromatografía En Capa Fina de Naranjo, B., 2019. [Guía Para Las Prácticas De Laboratorio, Taller O Campo]. Universidad de las Fuerzas Armadas- ESPE.

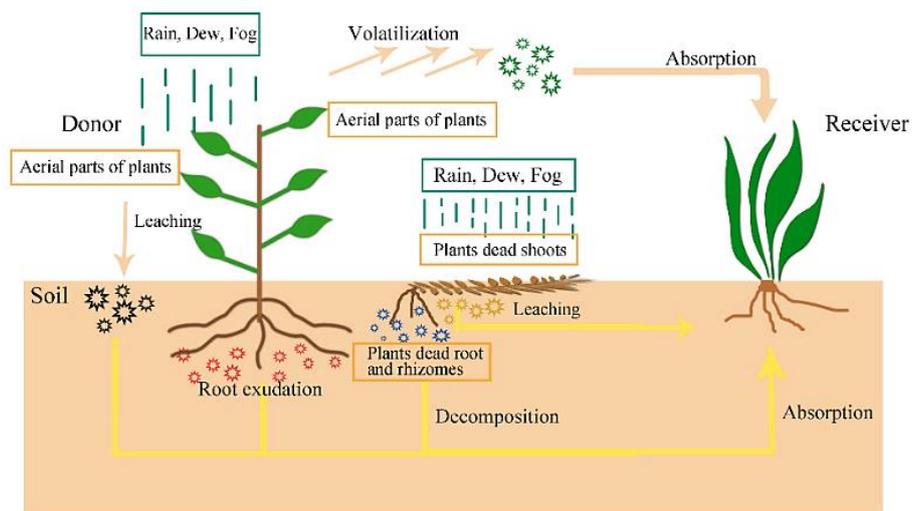
### Alelopatía

La alelopatía es el mecanismo de comunicación o interacción química, directa o indirecta, provocando un efecto beneficioso o adverso entre plantas o con microorganismos (Aniya et al., 2022).

La liberación de los compuestos alelopáticos de una planta puede darse a través de la lixiviación en hojas, exudados de raíces y por volatilización (Inderjit et al., 2011; Yuan et al., 2021) (Figura 13).

### Figura 13

*Vías alelopáticas de las plantas*



*Nota.* Vías: exudación, descomposición, absorción, lixiviación. Tomado de Research Advances in Allelopathy of Volatile Organic Compounds (VOCs) of Plants Xie, Y., Tian, L., Han, X., & Yang, Y., 2021. Horticulturae.

Múltiples estudios revelan los beneficios que tiene la alelopatía de las plantas en los sistemas agrícolas, un ejemplo, es el control de malezas e inhibición de plagas (A. Singh et al., 2017; Xie et al., 2021); además mejora la nutrición del suelo, reconocimiento de parentesco, interacciones microbianas, y puede ayudar en el crecimiento de las plantas.

Los aleloquímicos están disponibles en cualquier órgano de la planta (hojas, tallos, flores, semillas, frutos y/o raíces), para ser liberados por las diferentes vías antes mencionados (Xie et al., 2021).

Últimamente, se ha determinado que el efecto alelopático no solo ayuda con la inhibición de otras plantas, sino que también tienen efectos sobre su germinación y crecimiento (Xie et al., 2021).

## Germinación

Los procesos fisiológicos, bioquímicos y morfológicos por los que atraviesa una semilla para germinar son fundamentales para el crecimiento y supervivencia de la especie

vegetal, por lo que se vuelve un factor directo que puede afectar el rendimiento y calidad (productividad) que tiene la planta (Ali & Elozeiri, 2017).

Este proceso comienza cuando la semilla absorbe agua para el desarrollo del embrionario y esta sale de su estado de latencia, algunas formas para acelerar este proceso son mediante el control de la salinidad, humedad y temperatura donde se encuentran las semillas, con la aplicación de fitohormonas como el ácido abscísico y/o giberélico, así también con la estratificación y escarificación o la aplicación de fertilizantes o pesticidas (Rifna et al., 2019).

Algunos factores que se pueden tomar en cuenta a la hora de controlar el proceso de germinación es cuando la radícula emerge (raíz principal), la expansión del hipocótilo y la presencia de las hojas primarias.

### Capítulo III: Metodología

#### Obtención De Muestra De *Illicium verum* (Hook)

Las muestras obtenidas de *Illicium verum*, fueron adquiridas en la ciudad de Sangolquí- Ecuador; bajo el nombre de anís estrellado, donde se obtuvo el fruto seco con semillas en el interior de sus hendiduras.

#### Obtención De Material Vegetal

Tanto las semillas de *Raphanus sativus* L. (rábano) y *Lactuca sativa* L. (lechuga) se obtuvieron de la tienda agrícola de la empresa Agripac en la ciudad de Sangolquí, las dos semillas son certificadas, esto afirma la calidad y pureza de las variedades utilizadas.

#### Método de hidrodestilado

Los frutos y semillas se procesaron hasta obtener pedazos pequeños, se lo conservó en condiciones ambientales hasta su uso.

Se agregó 50 g de muestra en un balón de destilación del equipo Clevenger, con agua destilada hasta cubrir la muestra, se calentó a 100 °C por 1 h, en los primeros 15 minutos, inició la destilación, obteniendo un destilado de aspecto blanquecino, que se recolectó en la trampa Clevenger y se esperó hasta agotar la destilación de la totalidad de componentes volátiles de la mezcla, se midió el volumen de aceite esencial obtenido en mL, se recuperó el aceite en un frasco ámbar con tapa rosca y en ausencia de luz ultravioleta. Se realizaron 5 repeticiones siguiendo el mismo procedimiento.

Se utilizó la fórmula 2 para obtener el rendimiento del aceite esencial obtenido.

#### Fórmula 2

*Ecuación para determinación del porcentaje de rendimiento*

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Vol. de A.E final (mL)}}{\text{Peso de muestra usada (g)}} * 100\%$$

### **Método De Maceración**

Los frutos y semillas se trituraron hasta obtener pedazos pequeños, sin llegar a que se haga polvo, se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

Se pesaron 10 g de muestra y se introdujo en frascos ámbar, con acetona como solvente, hasta que cubra la muestra, se cerró y selló con Parafilm y se dejó en maceración por 11 días. Después de este tiempo, se realizó la extracción en el equipo Soxhlet, colocando la muestra en un cartucho en la cámara de extracción por una hora a 25 °C, finalmente se concentró el extracto en un rotavapor marca Buchi R-210/215 y se los recolectó y guardó en frascos ámbar de 5 mL. Se repitió esta operación cinco veces, se almacenó el extracto bajo refrigeración.

Se usó la fórmula 2 para obtener el rendimiento del extracto.

### **Cromatografía**

Se utilizó como fase estacionaria silica gel tipo G con indicador fluorescente.

Se trazó sobre la placa de silica gel una línea horizontal a 1.5 cm de la parte inferior y se dividió en 12 partes, con un tubo capilar se colocaron 5 gotas de aceite esencial, y de la misma forma se procedió con el extracto.

La fase móvil constituida de una mezcla de tolueno y acetato de etilo [93:7], se colocó en la cámara de cromatografía y dejó saturar por 15 min antes de introducir la fase estacionaria con la muestra aplicada cada 2 cm.

Se esperó la migración de la fase móvil hasta que el solvente alcance 3 cm antes de la parte superior, se retiró y se dejó secar bajo cámara de extracción de gases, se observó con luz UV, y se reveló con el reactivo cromogénico, anisaldehído sulfúrico, se dejó secar y se calentó en una plancha de calentamiento a 70 °C.

### **Pruebas de coloración**

Para estas pruebas se usaron de dos a tres gotas de aceite esencial en cada tubo de ensayo y de la misma forma con la solución madre de extracto.

En cada tubo se adicionaron tres a cuatro gotas de los siguientes reactivos; Lucas para alcoholes, Brady para aldehídos y cetonas, Cloruro férrico para fenoles, formaldehído-ácido sulfúrico para hidrocarburos aromáticos, Permanganato de potasio para dobles enlaces o insaturaciones y Tollens para aldehídos. Los resultados se toman al instante y se siguen las referencias de la tabla 5.

### **Pruebas Alelopáticas**

Con las dos muestras aceite esencial y extracto se realizaron soluciones madre de 1 mg/mL, y se usó Tween 20 y DMSO en una proporción de 1:0.002:0.002 para el extracto y 1:0.004:0.004 para la solubilización del aceite esencial y extracto en agua destilada, se realizaron diluciones de 0.3, 0.5 y 0.7 mg/mL para los dos ensayos.

El material usado para el ensayo de alelopatía fue autoclavado previo al ensayo.

Las semillas utilizadas de *Raphanus sativus* L. (rábano) y *Lactuca sativa* L. (lechuga) fueron desinfectadas con etanol al 70% durante un minuto; posteriormente se realizaron tres enjuagues con agua destilada durante un minuto.

En cámara de flujo laminar se dispensó 6 mL de las tres diluciones en cada caja Petri y se colocó 10 semillas de rábano, se repitió esta operación para tener 3 cajas por

dilución y una del control respectivamente; así mismo, para las semillas de lechuga, de esta forma se tiene 12 cajas Petri para las tres diluciones del aceite esencial y 12 para el extracto, se cerraron con Parafilm y se etiquetó (Figura 14), utilizando los siguientes códigos de la Tabla 6.

Las cajas Petri se dejaron en bandejas a temperatura ambiente cubiertas con papel aluminio y se anotó los cambios desde el día 3 hasta el 14, como la presencia de radícula, hipocótilo, hojas primarias, longitud de la raíz y tallo de todas las semillas de lechuga y rábano (Figura 15).

**Tabla 6**

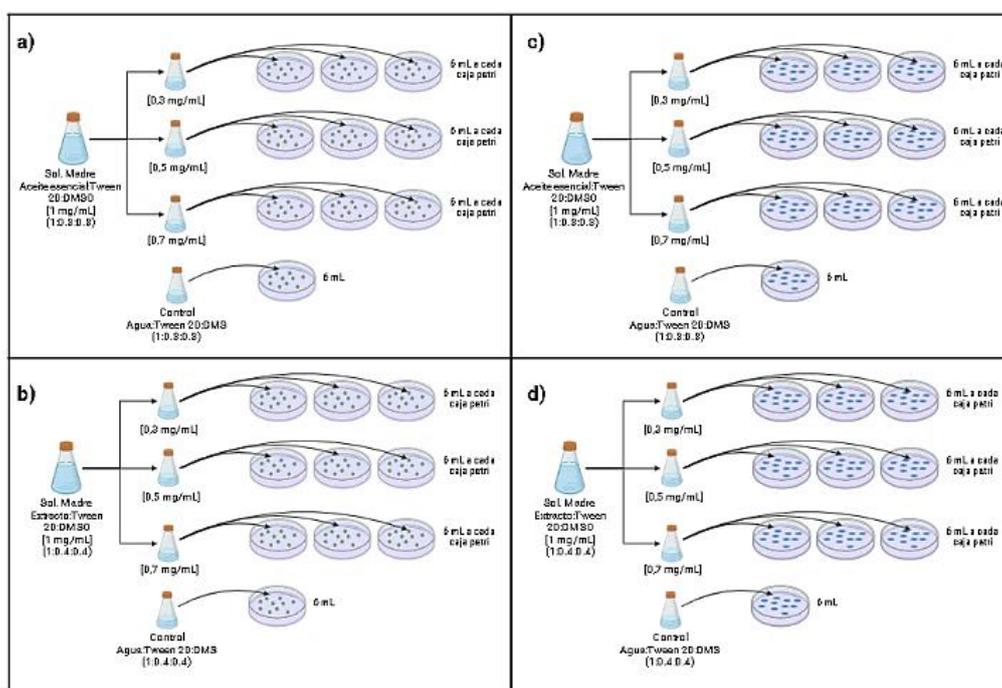
*Detalle del etiquetado de cajas Petri*

Tratamiento	Concentración	Muestra Vegetal			
	[mg/mL]	Lechuga	Rábano		
Aceite esencial	0.3	LAE1.1	RAE1.1		
		LAE1.2	RAE1.2		
		LAE1.3	RAE1.3		
		LAE2.1	RAE2.1		
		LAE2.2	RAE2.2		
		LAE2.3	RAE2.3		
	0.5	LAE3.1	RAE3.1		
		LAE3.2	RAE3.2		
		LAE3.3	RAE3.3		
		Control	CLAE	CRAE	
		Extracto	0.3	LE1.1	RE1.1
				LE1.2	RE1.2
LE1.3	RE1.3				
0.5	LE2.1		RE2.1		

Tratamiento	Concentración [mg/mL]	Muestra Vegetal	
		Lechuga	Rábano
		LE2.2	RE2.2
		LE2.3	RE2.3
		LE3.1	RE3.1
	<b>0.7</b>	LE3.2	RE3.2
		LE3.3	RE3.3
	<b>Control</b>	CLE	CRE

**Figura 14**

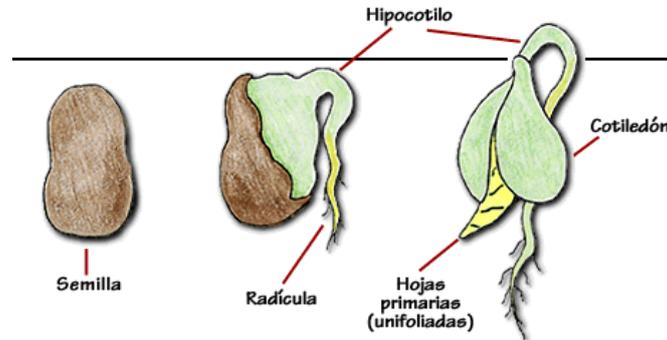
*Ilustración de pruebas alelopáticas*



*Nota.* Ilustración creada en el programa BioRender.com. a) Aplicación de diluciones de aceite esencial en semillas de rábano (RAE), b) Aplicación de diluciones de extracto en semillas de rábano (RE), c) Aplicación de diluciones de aceite esencial en semillas de lechuga (LAE) y d) Aplicación de diluciones de extracto en semillas de lechuga (LE).

## Figura 15

### *Factores para determinar una buena germinación*



*Nota.* para determinar una buena germinación se deben controlar factores como la presencia de radícula, hipocótilo y hojas primarias. Tomado Etapas de la germinación de una semilla de Solis, I., 2015, Imagui.

### Diseño Experimental

Se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan como diseño experimental para los resultados obtenidos del efecto alelopático en ensayos con semillas de lechuga como de rábano, con el fin de determinar si existe una diferencia significativa en la germinación de estas, las variables para analizar son la presencia de radícula, hipocótilo, hojas primarias, longitud de la raíz y tallo en el periodo de tiempo establecido anteriormente.

Para esta prueba se consideró un nivel de significancia de  $\alpha = 0.10$  para minimizar la tasa de error, y de esta forma la mínima diferencia entre las medias va a ser consideradas como significativas (Casas & Veitía, 2008). Este análisis fue realizado mediante el programa estadístico InfoStat.

## Capítulo IV: Resultados

### Obtención Del Aceite Esencial De *Illicium Verum* (Hidrodestilado).

Al aplicar el proceso de hidrodestilación se obtuvo como producto el aceite esencial, que presentó las siguientes características:

- Color: levemente amarillo-blanquecino.
- Olor: fuerte y característico del anís.
- Densidad: Menos denso que el agua.
- Alta volatilidad.
- Ligeramente viscoso.

**Tabla 7**

*Volumen de aceite esencial obtenido mediante el método de hidrodestilado.*

Tiempo (min)	Volumen de A.E. Obtenido (mL)				
	M1	M2	M3	M4	M5
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	0.6	0.6	0.4	0.2	0.2
4	0.8	0.8	0.6	0.4	0.4
6	1.0	0.8	0.6	0.6	0.6
8	1.0	1.0	0.8	0.6	0.8
10	1.2	1.2	1.0	0.8	0.8
12	1.2	1.2	1.0	0.8	1.0
14	1.2	1.2	1.2	0.8	1.0
16	1.4	1.2	1.2	0.8	1.0

---

<b>Volumen de A.E. Obtenido (mL)</b>					
<b>Tiempo (min)</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>	<b>M4</b>	<b>M5</b>
18	1.4	1.2	1.2	1.0	1.2
20	1.4	1.2	1.2	1.0	1.2
22	1.4	1.4	1.2	1.2	1.2
24	1.4	1.6	1.2	1.2	1.2
26	1.4	1.6	1.4	1.2	1.4
28	1.4	1.6	1.4	1.2	1.4
30	1.6	1.6	1.4	1.4	1.4
32	1.6	1.8	1.4	1.4	1.4
34	1.6	1.8	1.4	1.4	1.6
36	1.6	1.8	1.6	1.6	1.6
38	1.6	2.0	1.6	1.6	1.6
40	1.8	2.0	1.6	1.6	1.6
42	1.8	2.0	1.8	1.6	1.6
44	2.0	2.0	2.0	1.8	1.6
46	2.0	2.0	2.0	1.8	1.8
48	2.0	2.0	2.0	1.8	1.8
50	2.0	2.0	2.0	1.8	1.8
52	2.0	2.0	2.0	1.8	1.8
54	2.0	2.2	2.0	2.0	1.8
56	2.0	2.2	2.0	2.0	1.8
58	2.0	2.4	2.2	2.0	2.0

---

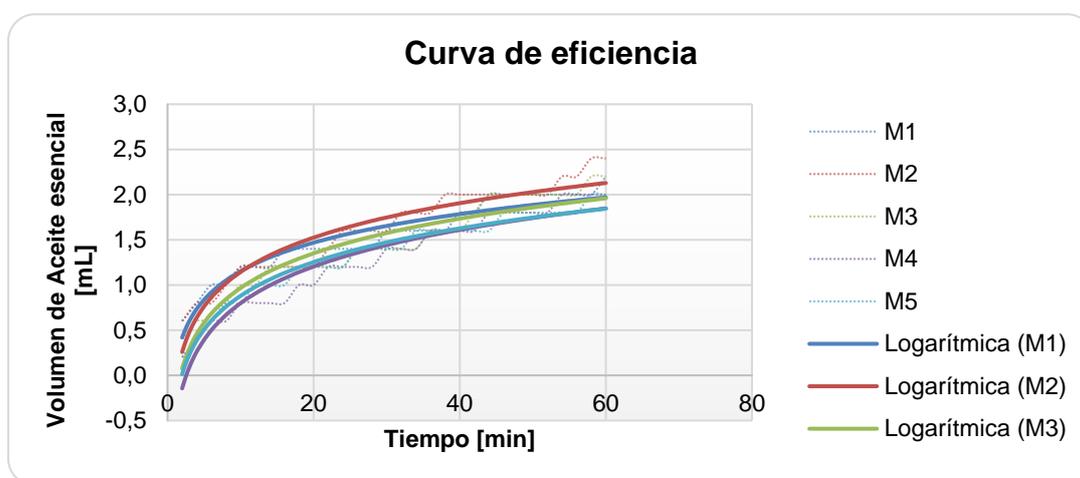
Volumen de A.E. Obtenido (mL)					
Tiempo (min)	M1	M2	M3	M4	M5
60	2.2	2.4	2.2	2.0	2.0

*Nota.* Volumen obtenido cada 2 min durante 1 h.

El tiempo necesario para agotar el aceite en la muestra analizada se indica en la figura 16.

**Figura 16**

*Curva de eficiencia de obtención de A.E.*



*Nota.* El gráfico estima el tiempo requerido para obtener la mayor cantidad de aceite esencial, en 60 min se puede alcanzar el pico máximo.

El rendimiento obtenido se indica en la tabla 8.

**Tabla 8**

*Rendimiento del aceite esencial*

Repetición	Volumen Final de AE Obtenido [mL]	Rendimiento
M1	2,2	4,4%
M2	2,4	4,8%

Repetición	Volumen Final de AE Obtenido [mL]	Rendimiento
M3	2,2	4,4%
M4	2,0	4,0%
M5	2,0	4,0%
<b>Promedio</b>	<b>2,2</b>	<b>4,32%</b>

*Nota.* El Porcentaje de Rendimiento fue obtenido aplicando la fórmula 2.

### Obtención Del Extracto De *Illicium verum* (Maceración)

Cuando se aplica la maceración como proceso de extracción se obtuvo como producto un extracto, que presentó las siguientes características:

- Color: café.
- Olor: fuerte y característico del anís.
- Densidad: Menos denso que el agua.
- Alta volatilidad.
- Altamente viscoso.

El rendimiento obtenido se indica en la tabla 9.

**Tabla 9**

*Peso de extracto obtenido por el método de maceración*

N.º Balón	Peso Inicial	Peso Final	Peso Extracto	Rendimiento
1	185,5	187,5	2,0	20%
2	179,9	181,6	1,7	17%
3	191,8	194,0	2,2	22%
4	191,9	194,1	2,2	22%
5	184,4	186,9	2,5	25%

N.º Balón	Peso Inicial	Peso Final	Peso Extracto	Rendimiento
Promedio			2,1	21,2%

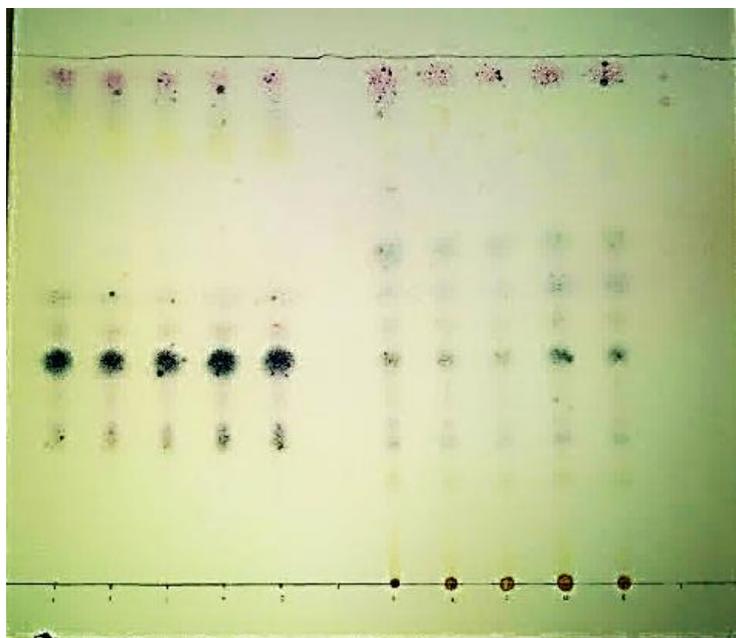
*Nota.* El porcentaje de rendimiento fue obtenido aplicando la fórmula 2.

### Cromatografía De Capa Fina

El resultado cromatográfico se indica en la figura 17.

#### Figura 17

*Fotografías del análisis cromatográfico*



*Nota.* Fotografía con aumento de nitidez al 100%, brillo 5% y contraste 60%.

#### ***Determinación Del Factor De Retardo $R_f$***

Se utilizó la fórmula 1 para obtener los resultados del  $R_f$  y se indican en la tabla 10.

**Tabla 10**

*R<sub>f</sub> experimentales y teóricos obtenidos de la cromatografía en capa fina de aceite esencial y extracto*

Solvente	Principios activos		R <sub>f</sub>		R <sub>f</sub> teórico	Componente
	Aceite esencial	Extracto	Aceite esencial	Extracto		
	Distancia recorrida (cm)					
14.0	-	2.3	-	0.16	0.15-0.25	Alcoholes terpénicos
	3.5	3.5	0.25	0.25	0.25	α-terpineno
	5.7	5.7	0.40	0.40	0.40	Linalool
	6.6	6.6	0.47	0.47	0.47	Eugenol
	7.2	7.2	0.51	0.51	0.50	p-anisaldehído
	-	8.8	-	0.63	0.64	Geranil acetato
	11.7	-	0.83	-	0.84	Limoneno
	13.4	13.4	0.94	0.94	0.94	Anetol

*Nota.* Comparación de R<sub>f</sub> obtenidos experimentalmente con el teórico (Aplicando similares condiciones de fase móvil y estacionaria) tomado de Evaluación del efecto alelopático y actividad plaguicida producido por el aceite esencial de anís estrellado (*Illicium verum* Hook. F) de Andrango, E., & Changoluisa, A., 2021 y Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas de Wagner, H., & Bladt, S, 2019, (Second Edition).

### Pruebas De Coloración

Los resultados obtenidos de las pruebas de coloración se presentan en la tabla 11.

**Tabla 11**

*Reacciones de coloración para identificación de grupos funcionales*

Prueba	Aceite esencial		Extracto			
	Resultado	Observación	Resultado	Observación		
Alcoholes (Lucas)	++		Dos fases	+		Dos fases
Aldehídos y cetonas (Brady)	+++		Precipitado	++		Precipitado
Fenoles	-		Color amarillo	-		Color amarillo- verde
Hidrocarburos aromáticos	++		Color anaranjado	+		Color rojo
Insaturaciones	+++		Color café	+++		Color café
Aldehídos (Tollens)	+		Espejo de plata	+++		Espejo de plata

*Nota.* Para indicar el resultado de las pruebas, se utilizó la escala del sistema positivo: - (reacción negativa), + (principio de una reacción positiva), ++ (reacción positiva con al menos una característica), +++ (reacción muy positiva con todas las características).

### **Efecto Alelopático del Aceite Esencial y Extracto De *I. verum***

Mediante el análisis estadístico se obtiene el valor-p del método, el cual nos da la probabilidad de que los tratamientos sean diferentes, si este valor es mayor al alfa establecido (0.10) significa que, se acepta la hipótesis nula; es decir, que, si existe una diferencia en el modelo, y si es menor, se rechaza la hipótesis nula; es decir, que no existe una diferencia.

Con el método Duncan se aprecia la variable con mayor diferencia significativa, en el programa estadístico InfoStat se refleja en la ubicación con letras en orden alfabético, la variable que cuente con mayor rango de letra y este sola, indica que su media es mayor que todas las anteriores.

El efecto alelopático fue determinado analizando estadísticamente los siguientes factores:

#### ***Presencia De Radícula***

Los datos obtenidos se presentan en la tabla 12.

**Tabla 12**

*Presencia de radícula en semillas de Lechuga y Rábano*

Caja	Radícula			
	LAE	LE	RAE	RE
<b>C</b>	9	8	9	9
<b>1.1</b>	10	7	10	9
<b>1.2</b>	10	9	9	10
<b>1.3</b>	10	10	10	10
<b>2.1</b>	9	3	9	10

Caja	Radícula			
	LAE	LE	RAE	RE
2.2	10	7	9	10
2.3	9	9	10	10
3.1	9	8	10	10
3.2	10	8	10	8
3.3	8	5	9	9

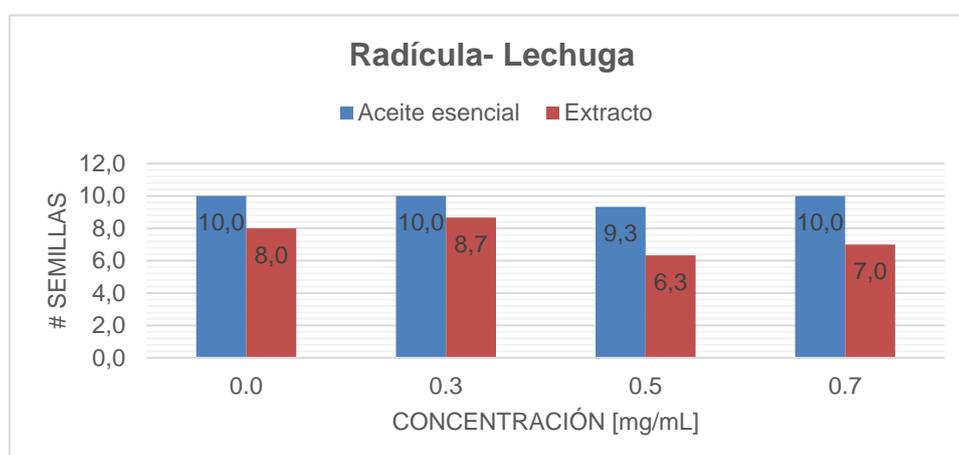
*Nota.* Se registró el número de semillas que tuvieron presencia de radícula en cada una de las cajas Petri a los 3 días.

### **Análisis Estadístico del Tratamiento de Aceite Esencial y Extracto en Lechuga**

A partir del análisis de varianza se obtuvo un valor-p de 0.1079 mayor a  $\alpha = 0.10$ , lo que quiere decir que no hay una diferencia estadística; sin embargo, el método de Duncan confirmó que los mejores tratamientos pertenecen a las aplicaciones donde se usó aceite esencial (Apéndice 1) (Figura 18).

### **Figura 18**

*Comparación entre los tratamientos con la presencia de radícula en semillas de lechuga*



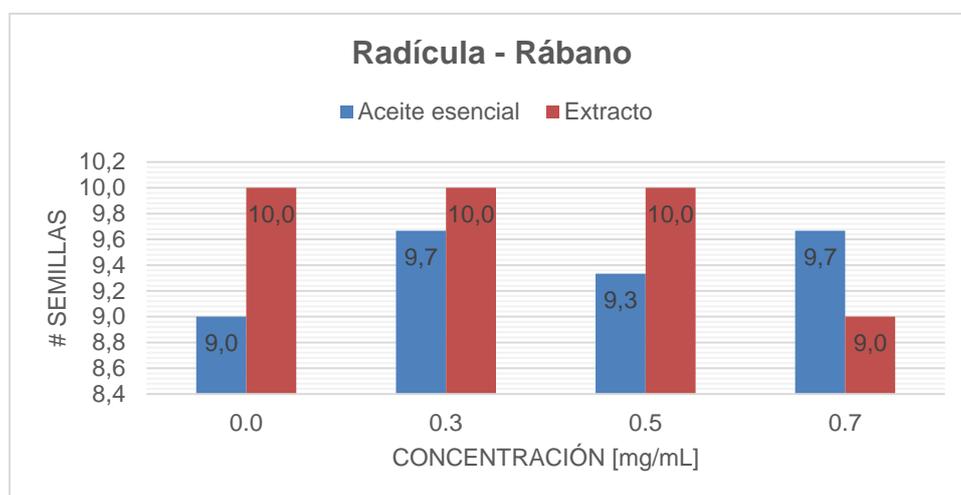
*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con presencia de radícula en semillas de lechuga.

### **Análisis Estadístico del Tratamiento de Aceite Esencial y Extracto en Rábano**

El valor-p obtenido para el modelo fue de 0.3724 mayor al  $\alpha$  de 0.10, indica que no hay una diferencia estadística. Con el método de Duncan se corroboró que ningún tratamiento en sus distintas concentraciones son significativamente diferentes (Apéndice 2) (Figura 19).

#### **Figura 19**

*Comparación entre los tipos de tratamientos con la presencia de radícula en semillas de rábano*



*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con presencia de radícula en semillas de rábano.

#### **Presencia de Hipocótilo en Semillas Germinadas**

Los datos obtenidos se presentan en la tabla 13.

**Tabla 13***Presencia de hipocótilo en semillas de Lechuga y Rábano*

Caja	Hipocótilo			
	LAE	LE	RAE	RE
<b>C</b>	0	0	9	10
<b>1.1</b>	4	0	10	10
<b>1.2</b>	1	2	9	9
<b>1.3</b>	4	1	9	8
<b>2.1</b>	3	0	9	10
<b>2.2</b>	4	2	9	10
<b>2.3</b>	2	4	10	9
<b>3.1</b>	4	1	9	9
<b>3.2</b>	3	2	9	8
<b>3.3</b>	3	0	7	9

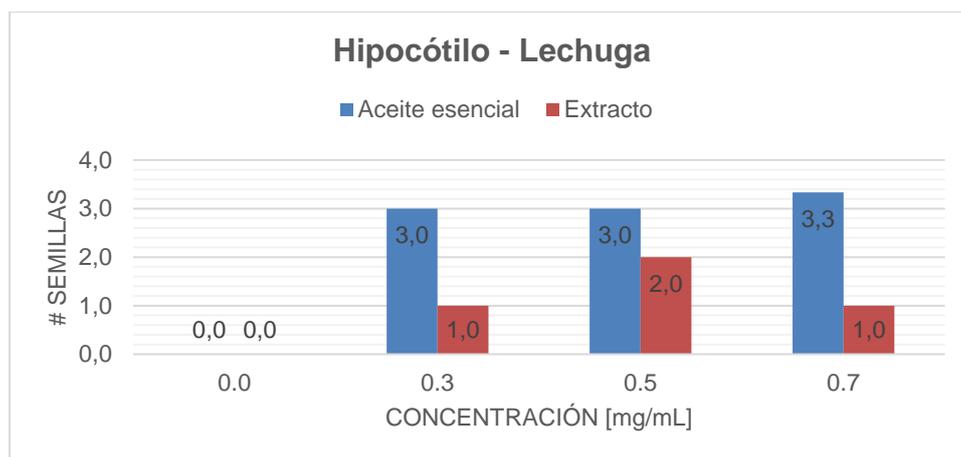
*Nota.* Se registró el número de semillas que tuvieron presencia de tallo en cada una de las cajas Petri a los 4 días.

### **Análisis Estadístico de la Presencia de Hipocótilo en Semillas de Lechuga**

En el análisis de varianza se obtuvo un valor-p de 0.1235 que es mayor al  $\alpha$  de 0.10 este resultado indica que no existe una diferencia estadística entre los tratamientos; sin embargo, el método de Duncan detectó que el mejor tratamiento es con la aplicación de aceite esencial en todas sus concentraciones (Apéndice 3) (Figura 20).

### **Figura 20**

*Comparación entre los tratamientos con la presencia de hipocótilo en semillas de lechuga*



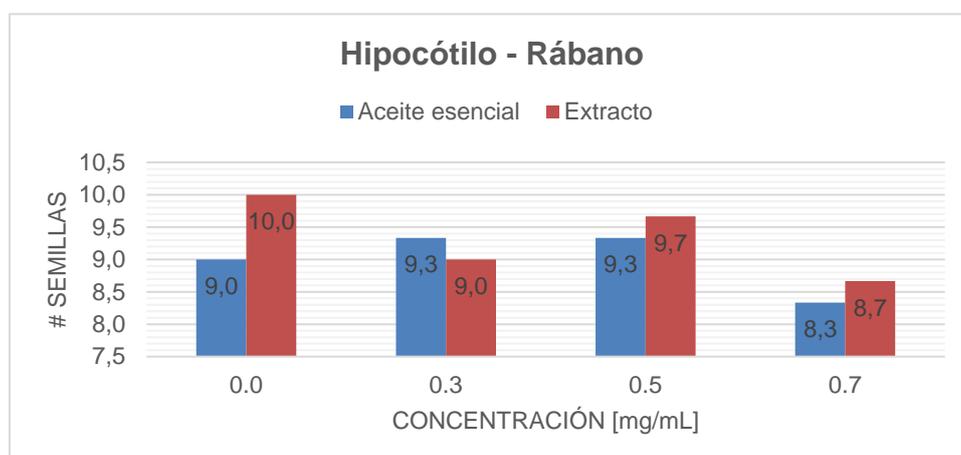
*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con presencia de hipocótilo en semillas de lechuga.

### **Análisis Estadístico de la Presencia de Hipocótilo en Semillas de Rábano**

El valor-p obtenido del modelo fue de 0.4513 mayor al  $\alpha$  de 0.10, esto que quiere decir que no existe una diferencia estadísticamente significativa; no obstante, el método de Duncan determinó que, si existe diferencias y el mejor tratamiento es con la aplicación de extracto (Apéndice 4) (Figura 21).

#### **Figura 21**

*Comparación entre los tratamientos con la presencia de hipocótilo en semillas de rábano*



*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con presencia de hipocótilo en semillas de rábano.

### **Presencia De Hojas Primarias**

Los resultados de la presencia de hojas primarias se presentan en la tabla 14.

**Tabla 14**

*Presencia de hojas en cubierta seminal en semillas de Lechuga y Rábano*

Caja	Hojas Primarias			
	LAE	LE	RAE	RE
<b>C</b>	0	0	9	10
<b>1.1</b>	4	0	9	10
<b>1.2</b>	1	2	9	9
<b>1.3</b>	4	1	9	8
<b>2.1</b>	3	0	9	10
<b>2.2</b>	4	2	9	10
<b>2.3</b>	2	4	10	9
<b>3.1</b>	4	1	9	9
<b>3.2</b>	3	2	9	8
<b>3.3</b>	3	0	7	9

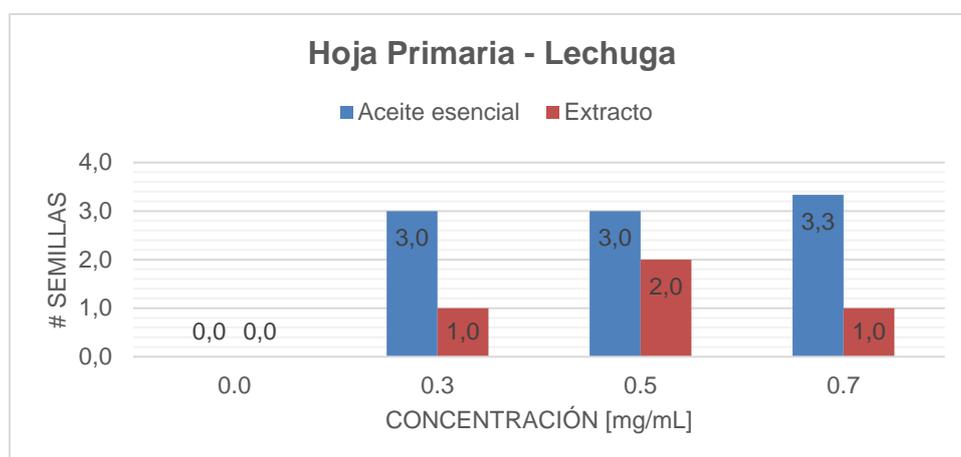
*Nota.* Se registró el número de semillas que tuvieron presencia de tallo en cada una de las cajas Petri a los 8 días.

### **Análisis Estadístico de la Presencia de Hojas Primarias en Semillas de Lechuga**

A partir del análisis de varianza se obtuvo un valor-p del modelo de 0.1235 mayor al  $\alpha$  de 0.10 lo que nos dice que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los dos tratamientos; sin embargo, el método de Duncan reveló que si existe una diferencia estadística y el mejor tratamiento es la aplicación de aceite esencial (Apéndice 5) (Figura 22).

### Figura 22

*Comparación entre los tratamientos con la presencia de hojas primarias en semillas de lechuga*



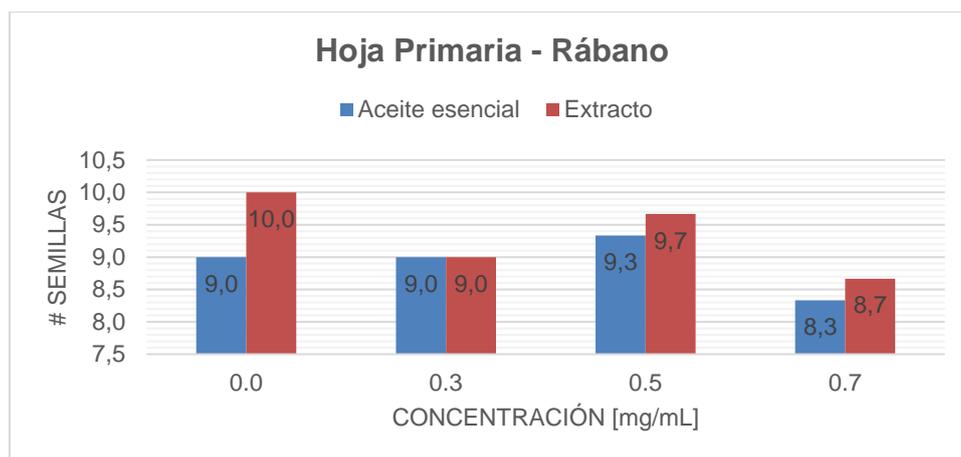
*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con presencia de hojas primarias en semillas de lechuga.

### **Análisis Estadístico de la Presencia de Hojas Primarias en Semillas de Rábano**

El valor-p obtenido para el modelo fue de 0.4207 mayor al  $\alpha$  de 0.10, lo que quiere decir que no hay una diferencia estadística y con el método de Duncan se probó que el mejor tratamiento es con la aplicación de extracto (Apéndice 6) (Figura 23).

### Figura 23

*Comparación entre los tratamientos y la presencia de hojas primarias en semillas de rábano*



*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con presencia de hojas primarias en semillas de rábano.

### ***Longitud De Raíz Y Tallo En Lechuga***

Los resultados obtenidos de la longitud de raíz y tallo en semillas de lechuga se presentan en las tablas 15-16 y 17-18 respectivamente.

**Tabla 15**

*Medidas de la longitud de raíz en semillas de lechuga con aceite esencial*

Caja	Medida de la raíz principal									
	LAE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>C</b>	3.8	3.4	3.3	2.7	1.7	2.5	4.0	3.4	2.7	1,3
<b>1.1</b>	1.8	2.5	2.9	4.5	3.1	2.0	2.4	2.4	3.7	4.3
<b>1.2</b>	2.9	2.6	5.0	3.0	3.1	2.9	3.2	1.5	4.0	1.8
<b>1.3</b>	2.6	2.2	2.8	2.2	2.2	2.1	2.3	3.4	3.8	2.1
<b>2.1</b>	1.2	2.6	2.9	2.7	1.5	2.8	1.6	2.9	2.7	2.4
<b>2.2</b>	2.9	2.5	2.1	3.1	2.9	1.7	1.4	3.5	3.5	0.6
<b>2.3</b>	2.2	3.0	3.1	3.0	4.2	2.8	1.4	0.9	2.3	0.8

<b>Medida de la raíz principal</b>										
<b>Caja</b>	<b>LAE</b>									
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>3.1</b>	2.8	2.4	2.8	2.6	2.4	1.1	2.7	3.4	2.7	2.6
<b>3.2</b>	2.5	2.9	2.1	2.5	2.6	3.1	3.2	1,8	2.6	2.9
<b>3.3</b>	2.6	2.5	2.3	1,8	1,5	1,5	3.1	1,5	2.4	1,5

*Nota.* Las medidas obtenidas de cada semilla en las cajas Petri se tomaron en centímetros a los 14 días.

**Tabla 16**

*Medidas de la longitud de raíz en semillas de lechuga con extracto*

<b>Medida de la raíz principal</b>										
<b>Caja</b>	<b>LE</b>									
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>C</b>	3.5	1,6	3.5	1,9	1.7	2.2	1.6	2.4	2.3	2.3
<b>1.1</b>	2.6	2.5	2.0	3.7	3.9	2.3	1.4	5.2	2.4	1.6
<b>1.2</b>	1.2	1.7	3.6	5.5	2.1	2.5	3.9	2.8	2.5	0.9
<b>1.3</b>	2.2	3.0	3.7	2.6	2.9	3.1	3.7	3.7	3.2	1.6
<b>2.1</b>	3.6	4.3	6.0	2.1	1.3	3.9	1.8	2.4	2.5	3.1
<b>2.2</b>	1.7	2.2	2.8	3.2	4.8	5.3	5.0	3.4	0.1	3.1
<b>2.3</b>	2.0	3.4	3.3	2.7	3.4	4.5	3.5	3.4	1.9	2.1
<b>3.1</b>	2.1	3.1	1.5	2.1	4.0	3.5	3.5	1.1	5.0	3.9
<b>3.2</b>	2.7	2.7	3.5	3.4	2.1	3.9	3.3	4.0	1,9	0.6
<b>3.3</b>	3.8	3.7	4.2	3.4	3.4	1,9	1,6	3.0	3.0	3.0

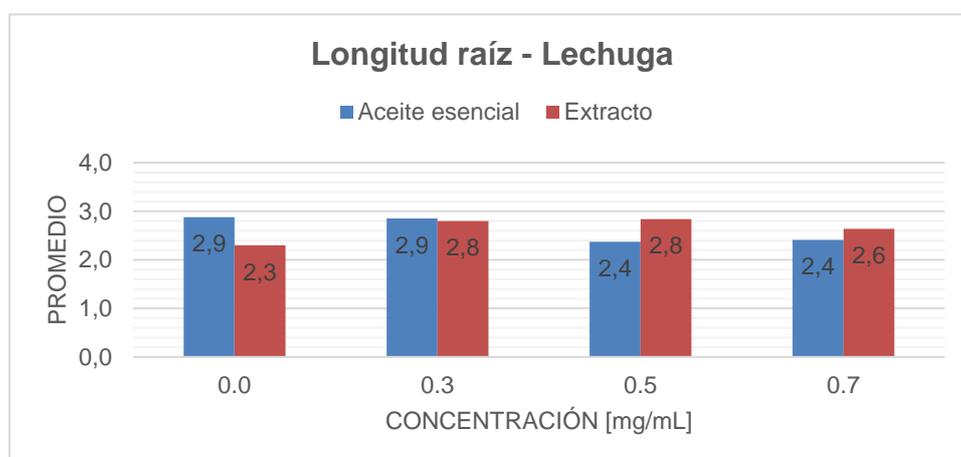
*Nota.* Las medidas obtenidas de cada semilla en las cajas Petri se tomaron en centímetros a los 14 días.

### Análisis Estadístico de la Longitud de Raíz en Semillas de Lechuga

En el análisis de varianza se obtuvo un valor-p de 0.1677 mayor a  $\alpha$  de 0.10 por lo que no existe una diferencia estadísticamente significativa en el modelo; sin embargo, según la prueba de Duncan se indica que el tratamiento con aplicación de aceite esencial tiene un mejor resultado en el crecimiento de las raíces de lechuga a una concentración de 0.3 mg/mL (Apéndice 7) (Figura 24), pero al compararlo con el control tienen el mismo rendimiento.

**Figura 24**

*Comparación entre los tratamientos con la longitud de raíz de lechuga*



*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con longitud de la raíz en semillas de lechuga.

**Tabla 17**

*Medidas de la longitud de tallo en semillas de lechuga con aceite esencial*

Caja	Medida del tallo									
	LAE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	3.0	2.9	3.7	3.8	4.0	4.0	3.3	3.7	3.9	1.8

<b>Medida del tallo</b>										
<b>Caja</b>	<b>LAE</b>									
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>1.1</b>	2.3	2.7	2.9	1.7	2.6	2.6	2.6	2.5	1.4	2.6
<b>1.2</b>	3.4	2.1	1.0	2.8	2.3	3.5	2.7	1.9	2.9	2.5
<b>1.3</b>	2.6	2.6	1.9	3.2	2.9	2.8	2.3	2.6	2.7	1.9
<b>2.1</b>	2.3	1.6	1.8	1.7	2.9	1.2	1.0	1.6	2.3	1.8
<b>2.2</b>	2.0	1.6	1.9	2.5	1.3	2.6	1.7	1.8	1.8	0.5
<b>2.3</b>	1.6	2.0	2.4	2.0	1.9	1.8	1.8	1.3	0.7	1.8
<b>3.1</b>	2.7	2.0	1.6	2.2	2.4	1.4	1.7	0.7	1.7	1.5
<b>3.2</b>	1.6	1.5	1.8	2.0	1.4	2.0	1.1	1.5	1.5	2.0
<b>3.3</b>	1.8	1.7	0.8	1.2	1.1	1.0	1.6	0.8	1.0	1.0

*Nota.* Medidas obtenidas de cada semilla de las cajas Petri tomadas en centímetros a los 14 días.

**Tabla 18**

*Medidas de la longitud de tallo en semillas de lechuga con extracto*

<b>Medida del tallo</b>										
<b>Caja</b>	<b>LE</b>									
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>C</b>	3.7	3.5	4.0	4.2	2.7	4.2	4.1	0.3	3.3	3.3
<b>1.1</b>	3.4	2.5	3.5	2.1	2.6	3.4	3.0	2.0	3.4	2.6
<b>1.2</b>	3.0	1.5	1.2	2.8	1.5	3.3	2.7	1.6	2.9	1.9
<b>1.3</b>	3.2	2.8	3.5	3.1	3.4	1.5	3.0	2.5	3.0	1.5
<b>2.1</b>	2.5	3.1	3.0	2.6	2.1	4.5	2.3	3.1	2.8	2.6
<b>2.2</b>	2.8	3.5	2.8	2.7	3.5	2.7	2.5	2.8	3.1	2.6

Caja	Medida del tallo									
	LE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>2.3</b>	2,5	2,6	2,3	3,5	2,5	3,0	3,2	2,5	3,0	3,0
<b>3.1</b>	2,7	2,5	2,5	2,9	2,6	1,9	2,5	1,8	2,7	2,8
<b>3.2</b>	2,2	3,1	2,5	2,1	2,3	2,8	2,5	2,1	2,9	1,7
<b>3.3</b>	0,8	2,6	2,9	2,6	2,9	2,0	2,4	2,4	2,4	2,4

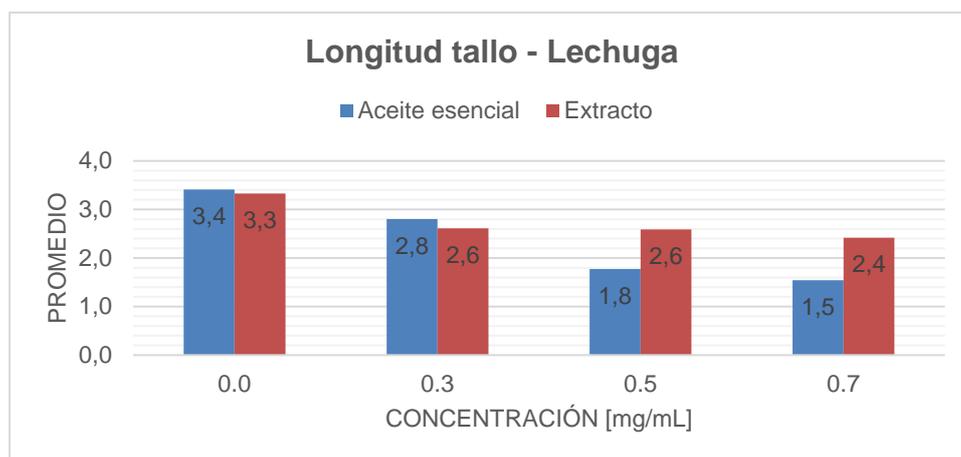
*Nota.* Medidas obtenidas de cada semilla de las cajas Petri tomadas en centímetros a los 14 días.

### Análisis Estadístico de la longitud de Tallo en Semillas de Lechuga

Del análisis de varianza se obtuvo un valor-p de 0.0001 menor a  $\alpha$  de 0.10 que indica una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos y por la prueba de Duncan se indica que el tratamiento usando aceite esencial, presenta mejor resultado en el crecimiento de los tallos de lechuga a la concentración de 0.3 mg/mL (Apéndice 8) (Figura 25), aunque este tratamiento obtuvo un rendimiento menor comparado con el control.

#### Figura 25

*Comparación entre los tratamientos con la longitud de tallo de lechuga*



*Nota.* Gráfico de barras de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con longitud del tallo en semillas de lechuga.

### **Longitud De Raíz Y Tallo En Rábano**

Los resultados obtenidos de la longitud de raíz y tallo en semillas de rábano se presentan en la tabla 19-20 y 21-22 respectivamente.

**Tabla 19**

*Medidas de la longitud de raíz en semillas de rábano con aceite esencial*

Caja	Medida de la raíz principal									
	RAE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>C</b>	12.5	16.0	12.7	11.4	11.5	11.8	15.2	10.9	9.7	12.4
<b>1.1</b>	4.0	13.4	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7
<b>1.2</b>	14.2	13.5	7.8	9.5	10.5	12.6	12.7	8.1	12.4	9.7
<b>1.3</b>	8.7	6.7	8.7	5.6	6.8	9.8	10.2	8.5	14.1	5.1
<b>2.1</b>	5.1	14.0	7.1	8.2	6.4	2.0	6.2	2.1	8.8	8.8
<b>2.2</b>	7.3	7.0	9.9	6.2	10.4	9.2	12.2	9.2	13.5	8.8
<b>2.3</b>	13.0	11.5	9.3	14.1	10.4	14.9	2.1	15.2	5.7	4.4
<b>3.1</b>	5.0	3.0	3.7	7.2	2.5	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2
<b>3.2</b>	6.6	6.2	10.4	8.6	3.4	9.9	6.7	10.2	11.0	4.6
<b>3.3</b>	10.7	9.5	11.6	5.4	12.3	8.0	10.9	2.1	2.9	7.2

*Nota.* Longitud de las semillas de las cajas Petri tomadas en centímetros, a los 14 días.

**Tabla 20**

*Medidas de la longitud de raíz en semillas de rábano con extracto*

Caja	Medida de la raíz principal									
	RE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>C</b>	7.5	14.5	11.5	16.0	12.4	18.7	11.8	14.9	11.1	16.0
<b>1.1</b>	11.5	14.2	8.8	5.5	2.5	18.1	13.5	3.7	10.6	2.7
<b>1.2</b>	8.7	6.7	7.8	10.2	9.6	11.5	9.0	6.8	5.9	6.0
<b>1.3</b>	2.8	13.0	5.4	12.2	7.1	15.9	13.2	7.2	7.7	7.8
<b>2.1</b>	10.4	10.1	11.5	6.0	5.8	13.2	13.3	2.1	7.0	4.4
<b>2.2</b>	3.9	5.7	12.9	13.5	10.1	10.3	3.7	9.8	8.2	8.0
<b>2.3</b>	6.9	5.7	9.7	12.3	6.7	11.3	12.4	7.1	5.6	2.1
<b>3.1</b>	9.4	8.9	11.1	10.4	8.5	14.3	11.2	4.9	6.9	7.7
<b>3.2</b>	4.1	7.1	4.0	11.0	3.5	10.3	10.4	4.0	7.8	7.7
<b>3.3</b>	7.3	6.0	6.1	9.5	7.4	7.6	8.5	2.6	4.8	7.7

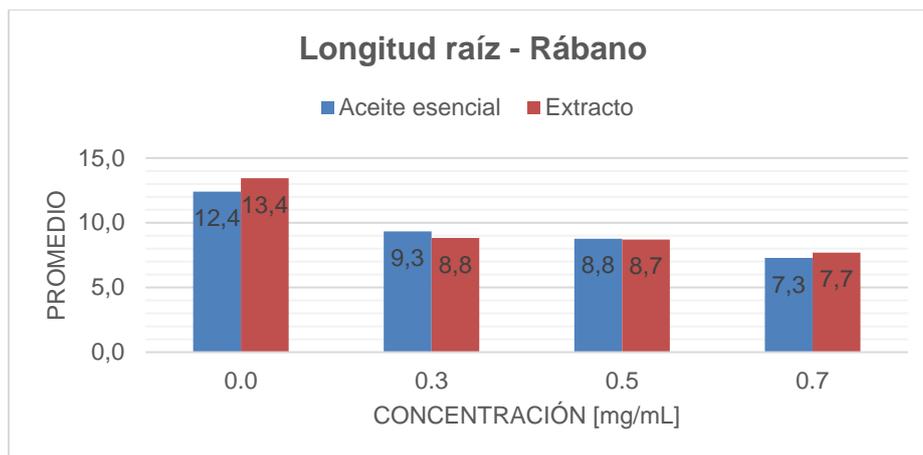
*Nota.* Longitud de las semillas de las cajas Petri tomadas en centímetros, a los 14 días.

### **Análisis Estadístico de la Longitud de Raíz en Semillas de Rábano**

El valor-p obtenido fue de 0.0001 menor a  $\alpha$  de 0.10 por lo que se acepta que existe una diferencia significativa entre los dos tratamientos, y según la prueba de Duncan se indica que el mejor tratamiento es con aceite esencial a la concentración de 0.3 mg/mL (Apéndice 9) (Figura 26), aunque su rendimiento es menor al comparar con el control.

### **Figura 26**

*Comparación entre los tratamientos y la longitud de raíz de rábano*



*Nota.* Gráfico de comparación entre la longitud de la raíz de semillas de rábano con los tratamientos (aceite esencial y extracto) a diferente concentración.

**Tabla 21**

*Medidas de la longitud de tallo en semillas de rábano con aceite esencial*

Caja	Medida del tallo									
	RAE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>C</b>	3.5	9.6	7.2	4.0	5.8	5.8	6.4	4.0	3.6	5.5
<b>1.1</b>	3.5	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1
<b>1.2</b>	4.6	3.4	3.1	2.4	3.3	4.1	4.9	0.6	5.3	3.1
<b>1.3</b>	1.6	2.8	1.0	4.5	3.1	4.5	3.2	2.0	2.3	1.8
<b>2.1</b>	3.1	3.8	2.8	1.8	6.7	3.3	0.8	0.5	2.2	2.2
<b>2.2</b>	1.3	2.2	1.5	1.1	2.3	1.6	1.0	0.9	1.1	2.2
<b>2.3</b>	2.0	2.5	2.0	2.1	3.7	4.8	2.4	2.1	0.5	1.0
<b>3.1</b>	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
<b>3.2</b>	1.7	1.2	1.2	1.1	1.8	0.7	3.5	0.7	1.6	1.6
<b>3.3</b>	2.4	1.6	1.0	2.0	2.1	1.6	1.8	1.0	1.6	1.6

*Nota.* Medidas obtenidas de cada semilla de las cajas Petri tomadas en centímetros, a los 14 días.

**Tabla 22**

*Medidas de la longitud de tallo en semillas de rábano con extracto*

Caja	Medida del tallo									
	RE									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>C</b>	3.9	3.5	3.1	3.8	3.5	1.9	2.7	4.3	1.5	3.8
<b>1.1</b>	2.5	4.0	2.5	2.6	3.4	4.2	3.0	2.0	0.5	1.5
<b>1.2</b>	2.7	2.6	1.8	2.5	1.3	2.4	2.0	2.0	1.9	1.0
<b>1.3</b>	3.3	4.3	1.4	3.3	3.2	0.9	2.0	2.0	5.4	2.1
<b>2.1</b>	1.7	3.4	2.5	2.2	3.6	1.8	2.1	2.1	1.2	4.0
<b>2.2</b>	0.5	1.2	3.5	1.2	1.3	1.3	1.2	2.5	1.8	1.2
<b>2.3</b>	2.3	2.1	2.8	1.0	3.2	1.2	1.0	2.5	1.8	1.9
<b>3.1</b>	4.4	2.5	3.5	1.8	3.3	0.6	1.1	1.3	2.1	2.0
<b>3.2</b>	1.3	3.2	1.8	2.0	0.7	4.4	1.5	4.0	1.5	2.0
<b>3.3</b>	1.1	1.7	1.4	1.1	0.5	0.5	1.8	1.7	2.0	2.0

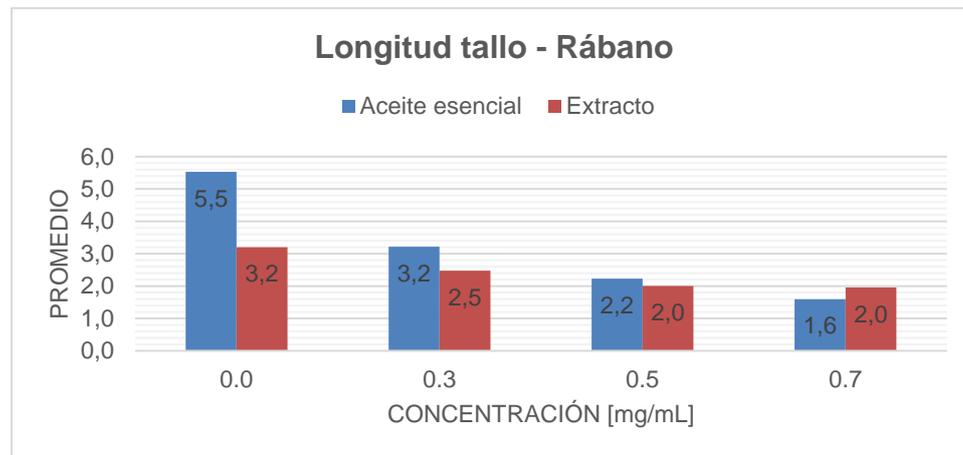
*Nota.* Medidas obtenidas de cada semilla de las cajas Petri tomadas en centímetros, a los 14 días.

### **Análisis Estadístico de la Longitud de Tallo en Semillas de Rábano**

A partir del análisis de varianza se obtuvo un valor-p de 0.0001 menor a  $\alpha$  de 0.10, esto quiere decir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los dos tratamientos y con la prueba de Duncan se indicó que el mejor tratamiento es la aplicación de aceite esencial a la concentración de 0.3 mg/mL (Apéndice 10) (Figura 27), pero su rendimiento es menor que el del control.

**Figura 27**

Gráfico comparación entre los tratamientos y la longitud de tallo en rábano



*Nota.* Gráfico de comparación de tratamientos (aceite esencial y extracto) con longitud del tallo en semillas de rábano.

## Capítulo V: Discusión

### Obtención y Rendimiento del Aceite Esencial y Extracto de *Illicium verum* (Hook)

A través del método de extracción por hidrodestilación de aceite esencial se obtuvo en promedio 4.32%, y con el método de maceración se extrajo en promedio 21.2%.

El contenido de aceite esencial de *I. verum*, reportado por Gholivand y colaboradores en 2009, es de 5 a 9% (Gholivand et al., 2009) quienes además indican que se puede extraer entre un 4.0 a 4.5% por el método de hidrodestilación en un tiempo de 4 a 8 h (da Silva et al., 2022).

La variación del resultado con el método de extracción puede deberse a las condiciones de operación, como: el tamaño de la muestra usada, la cual debe ser homogénea y en trozos pequeños para que las glándulas sebáceas de la muestra se abran y provocar una mejor circulación del aceite, además, el tiempo de extracción, temperatura entre otros factores (Nguyen Tuyet Thi Ngoc et al., 2021), un poco control de estos factores hacen que no se llegue a obtener todo el aceite esencial que contiene la muestra (da Silva et al., 2022; Yousefi et al., 2019).

El promedio de extracción para el método de maceración fue de 21.2% con acetona como solvente, mucho mayor que el conseguido por Miranda y colaboradores en 2022, donde obtuvieron 11.4% con etanol, 6.4% con éter dietílico y 3% con n-hexano (Miranda et al., 2022), aunque el proceso y características organolépticas fueron similares, y el uso de diferentes solventes mientras más neutros o más polar sean, tendrá mejor rendimiento (Miranda et al., 2022).

La polaridad que presenta la acetona como solvente provee la capacidad de extraer todos los componentes que se encuentren en la muestra que sean solubles a esa polaridad y no solo los que esperaríamos en su aceite esencial.

Estos factores también pueden generar que los compuestos sufran una degradación por la temperatura o por hidrólisis; por lo general, esto se da en monoterpenos oxigenados lo (da Silva et al., 2022; Jugreet et al., 2020). Así también, pueden llegar a oxidarse o a trans-esterificarse, por lo que se debe tener en cuenta las condiciones en las que se van a aplicar a los métodos de extracción (da Silva et al., 2022; Drinić et al., 2020) y las aplicaciones que se les pueda dar.

Además, se debe considerar que el contenido de aceite esencial en plantas medicinales puede verse afectado por las condiciones climáticas de donde fue tomada la muestra; así también, el periodo en el que fue plantado y cosechado, para obtener la máxima cantidad posible de aceite esencial (Damayanti et al., 2019; Nguyen Tuyet Thi Ngoc et al., 2021; Sivasothy et al., 2011) y las condiciones que se le da a la muestra para su almacenamiento como temperatura, humedad, entre otros factores.

### **Análisis Cromatográfico**

La aplicación de la técnica cromatográfica por capa fina permite la separación de los constituyentes de una mezcla como el aceite esencial y el extracto obtenido, de esta manera se identificó los siguientes compuestos:  $\alpha$ -terpineno, linalool, eugenol, p-anisaldehído y anetol que tienen en común y además limoneno en el aceite esencial y alcoholes terpénicos y geranil acetato en el extracto, por los  $R_f$  a través de los calculados y comparados con los de bibliografía.

(Cheng, 2012; Z. Wang et al., 2006) determinan que las sustancias más importantes que están en el aceite esencial de *Illicium verum*, son *trans*- anetol, limoneno, linalool y  $\alpha$ -pineno, que coinciden con los componentes identificados en este ensayo.

Sin embargo, para los componentes presentes en el extracto; aunque, en su mayoría, son los mismos que presenta el aceite esencial, contiene otros principios activos debido a que la acetona, al ser un solvente de polaridad intermedia-baja, tiene la capacidad de donar y receptor enlaces para la formación de puentes de hidrógeno (Peñarreta, 2016; Ringuelet & Viña, 2013), lo que ayuda a la extracción de compuestos con mediana y alta polaridad (Peñarreta, 2016) como los alcoholes terpénicos y el geranil acetato.

La polaridad que posee la acetona también ayuda a la recuperación de compuestos fenólicos (Alara et al., 2021; Liu et al., 2009; López et al., 2005; Miranda et al., 2022; Nawaz et al., 2020) como el *trans*- anetol, característico del anís estrellado, por lo que se puede decir que este compuesto es ideal para usarlo como solvente para maceración y obtención de extracto de esta planta; ya que solventes con mayor polaridad como el etanol no extraen *trans*- anetol como se reporta en el trabajo de (Miranda et al., 2022), aunque sea el componente más abundante en *Illicium verum* (Q. Wang et al., 2007).

### **Pruebas de Coloración**

En los diferentes ensayos realizados sobre aceite esencial y extracto con reactivos específicos para la detección de grupos funcionales se estableció un resultado unánime para las dos muestras analizadas, los cuales dieron positivo para la presencia de alcoholes, aldehídos, cetonas, hidrocarburos aromáticos e insaturaciones, que tienen concordancia con los resultados obtenidos en el análisis cromatográfico.

Cheng- Hong Yang (2012) y Wang (2006), enuncian en sus publicaciones, que en muestras de anís estrellado se encuentran compuestos como el *trans*- anetol, anisaldehído,

eugenol (Cheng, 2012; Sharafan et al., 2022; Z. Wang et al., 2006); pero, en la identificación de compuestos fenólicos no fueron detectados tanto en el AE. y en el extracto, debido a que el ensayo se realizó con cloruro férrico, el cual reacciona con los hidroxilos fenólicos libres; y, los principios activos presentes en anís no poseen hidroxilos libres o están en muy poca cantidad, por lo que es insuficiente para ser revelado por el reactivo, además que, estos principios activos son sintetizados en la planta dependiendo de estrés a la que esté sometido (Balaram et al., 2021).

### **Efecto Alelopático**

El análisis estadístico se realizó en cada uno de los factores que establecen una buena germinación (presencia de radícula, alargamiento de hipocótilo y presencia de hojas primarias) y en análisis de la longitud tanto de la raíz como del tallo con los diferentes tratamientos (aplicación de aceite esencial y extracto) en distintas concentraciones.

En las semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) se evidenció un mejor resultado con la aplicación de aceite esencial sobre los factores de germinación, aunque aquí solo se pudo establecer el mejor tratamiento, y en el análisis de la longitud de su raíz y tallo se identificó una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, siendo el mejor tratamiento cuando se utilizó aceite esencial a una concentración de 0.3 mg/mL para los dos, sin embargo, de menor rendimiento al ser comparadas con el control.

Por otra parte, en las semillas de rábano (*Raphanus sativus* L.) se determinó que el mejor tratamiento es con la aplicación de extracto, ya que este manifestó un mejor resultado sobre los factores de germinación, pero en el análisis estadístico de la longitud de raíz y tallo se evidenció una diferencia estadísticamente significativa con la concentración de 0.3 mg/mL del tratamiento con aceite esencial, pero al ser comparadas con el control, tiene un menor rendimiento.

El análisis estadístico de las diferentes variables analizadas permite afirmar que la aplicación de aceite esencial y extracto de *Illicium verum* en el proceso de la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* L (lechuga) y *Raphanus sativus* L (rábano), resulta en un buen desarrollo de los factores de la germinación; aunque, en los dos casos presentaron una inhibición en el crecimiento de la raíz y tallo; ya que, poseen una diferencia estadísticamente significativa al compararlos con los resultados obtenidos en los controles, pero, al comparar solo los tratamientos, el mejor tratamiento es con la aplicación de aceite esencial en la menor de las concentraciones (3 mg/mL), por lo que es posible utilizar el aceite esencial como una alternativa a los agroquímicos para control de plagas y malezas, sin que se vean afectadas en una inhibición completa en especies vegetales de interés a las que se les aplique.

Estos resultados no se ven afectados por el uso de Tween 20 y DMSO en las soluciones madre usadas; ya que, el porcentaje usado fue de 0.4 de los dos compuestos con el aceite esencial y 0.2 en el extracto, estas cantidades solo ayudaron a incorporar mejor tanto el aceite como el extracto en las diluciones como se reporta en (Marcos-Tejedor et al., 2021; Shin & Lim, 2004), donde el uso de concentraciones bajas no afecta los estudios donde se los utiliza, de esta forma se puede usar hasta 20% sin presentar inhibición en hongos, microbios, etc. (Marcos-Tejedor et al., 2021; Orchard & van Vuuren, 2017), así también se reporta que el uso de los dos detergentes en combinación favorece la solubilidad en los medios (Marcos-Tejedor et al., 2021; Shin & Lim, 2004).

La combinación de compuestos que presenta el aceite esencial y extracto de *Illicium verum* puede ser la causa del crecimiento favorable en la germinación de las semillas de lechuga y rábano, sin que estos presenten una inhibición total como en otros aceites esenciales que tienen compuestos principales como el  $\alpha$ - pineno del aceite esencial de *Schinus terebinthifolia* (pimienta rosada) que causó una importante inhibición de la tasa de germinación de *Lactuca sativa* (Fernandes et al., 2023).

La inhibición resaltada en las longitudes de raíz y tallo comparadas con sus controles en los dos ensayos (lechuga y rábano) se evidenció en los tratamientos con extracto, esto debido a que en esta sustancia se encontró acetato de geranilo (monoterpeno) y posiblemente se extrajeron otros de este mismo tipo, estos compuestos son la causa de la inhibición en las longitudes analizadas, ya que en 2016, Said y colaboradores afirmaron que la alta presencia de monoterpenos puede causar una reducción del proceso de germinación, aunque no necesariamente una inhibición total (Andrango & Changoluisa, 2021; Said et al., 2016).

Los resultados de las concentraciones que presentaron los mejores promedios de longitud de raíz y tallo concuerdan con la publicación de Sandoval y Contreras en 2019, donde afirman que el aceite esencial es una sustancia donde se encuentran los principios activos más concentrados, mientras que el extracto no se tiene la misma concentración y se pueden encontrar otros compuestos como en este caso mayor cantidad de monoterpenos (Sandoval & Contreras, 2019), esta es la razón de la variación en los resultados al comparar los tratamientos.

De la misma manera, tanto el aceite esencial como el extracto al tener una composición similar son capaces de tener un control de hongos fitopatógenos, como lo menciona Huang y colaboradores, que la actividad antifúngica se debe a la presencia del anetol (Huang et al., 2010), el cual inhibe al 100% hongos como *Fusarium graminearum*, *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* (Aly et al., 2016), que puede atacar a los cultivos de lechuga y rábano provocando una reducción en el crecimiento de sus raíces; además, este principio activo presenta un efecto inhibitorio frente a *Saccharomyces cerevisiae* (De Almeida et al., 2010) e insecticida en presencia de larvas jóvenes del escarabajo de la papa de Colorado (De Almeida et al., 2010; Ibáñez, 2019).

Según la investigación de Singh y colaboradores, mencionaron que uno de los componentes presentes en el aceite esencial y extracto de *Illicium verum*, Linalool, produjo un alto porcentaje de mortalidad en termitas (Attique, 2012; G. Singh et al., 2001), esto es un indicativo de que estos compuestos pueden defender a las plantas sin dañarlas y permitirles un desarrollo adecuado, así también lo menciona Hazrati y colaboradores en su artículo, que la aplicación de aceites esenciales tuvo mínimo efecto negativo en la germinación de semillas de lechuga (Attique, 2012; Hazrati et al., 2018).

Asimismo, se puede reiterar la afirmación de (Huang et al., 2010) quién menciona que el anís estrellado no es dañino, ya que permite seguir con el proceso de germinación, pero por bibliografía, se conoce que inhibe malezas o plagas (Andrango & Changoluisa, 2021; De Almeida et al., 2010; Huang et al., 2010; Ibáñez, 2019), si lo fuera debería detener la germinación de semillas como sucede con el uso de aceites esenciales de cilantro, hinojo (Attique, 2012), romero (Ibáñez, 2019) entre otros, aplicados a los mismos ejemplares.

## Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

### Conclusiones

- Se obtuvo el aceite esencial (líquido amarillo blanquecino) y extracto (marrón y denso) de *Illicium verum* L., mediante el método de hidrodestilado y macerado respectivamente, con características específicas.
- El rendimiento obtenido de aceite esencial mediante hidrodestilación y de extracto mediante el método de maceración existe diferencia considerable (4.32% y 21.2% respectivamente), por lo que la maceración es el método que proporciona un mayor rendimiento y eficaz cuando se requiere mayor cantidad de principios activos y se dispone de poco material vegetal.
- El análisis cromatográfico revela que los dos métodos son adecuados para obtener los metabolitos secundarios representativos de *Illicium verum* (Hook) ( $\alpha$ -terpineno, linalool, eugenol, p-anisaldehído, limoneno y anetol).
- El efecto alelopático que presenta *Illicium verum* sobre las semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y rábano (*Raphanus sativus* L) fueron más prometedores al aplicar aceite esencial en menor concentración (0.3 mg/mL), no obstante, los dos tratamientos tuvieron menor rendimiento que el control; es decir, sus componentes pueden usarse contra malezas y plagas sin dañar a las plantas o cultivos debido a que permite el proceso de germinación relativamente normal.

### Recomendaciones

- Para obtener un mejor resultado en la identificación de principios activos la muestra debe ser procesada de tal manera que se utilicen trozos pequeños; pero sin llegar a que sean polvo por completo para evitar la volatilización de los principios activos y mantener los efectos analizados.

- Para la obtención del aceite esencial y extracto se debe procesar la muestra, mínimo una hora en los respectivos métodos de extracción.

## Bibliografía

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from Vernonia cinerea leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 12-17.  
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.  
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., & Azhari, N. H. (2018). Vernonia cinerea leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Industrial Crops and Products*, 122, 533-544. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.034>

Alemán, R., Bravo, C., & Fargas, M. (2018a). *Fertilización orgánica en cultivos de lechuga (Lactuca sativa L) y rábano (Raphanus sativus L) en la Amazonía ecuatoriana*. (Asociació Catalana d'Enginyeria Sense Fronteres).

Alemán, R., Bravo, C., & Fargas, M. (2018b). *Fertilización orgánica en cultivos de lechuga (Lactuca sativa L) y rábano (Raphanus sativus L) en la Amazonía ecuatoriana*. (Asociació Catalana d'Enginyeria Sense Fronteres).

Alemán, R., Bravo, C., & Oña, M. (2014). *Posibilidades de producir hortalizas en la Región Amazónica del Ecuador, provincia Pastaza* (Centro Agrícola, Vol. 1).  
[https://www.researchgate.net/publication/275971438\\_Posibilidades\\_de\\_producir\\_hortalizas\\_en\\_la\\_Region\\_Amazonica\\_del\\_Ecuador\\_provincia\\_Pastaza\\_Possibilities\\_of\\_producing\\_vegetables\\_in\\_the\\_Amazon\\_Region\\_of\\_Pastaza\\_province\\_Ecuador](https://www.researchgate.net/publication/275971438_Posibilidades_de_producir_hortalizas_en_la_Region_Amazonica_del_Ecuador_provincia_Pastaza_Possibilities_of_producing_vegetables_in_the_Amazon_Region_of_Pastaza_province_Ecuador)

- Ali, A. S., & Elozeiri, A. A. (2017). Metabolic Processes During Seed Germination. En J. C. Jimenez-Lopez (Ed.), *Advances in Seed Biology*. InTech.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.70653>
- Aly, S. E., Sabry, B. A., Shaheen, M. S., & Hathout, A. S. (2016). Assessment of antimycotoxigenic and antioxidant activity of star anise (*Illicium verum*) in vitro. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15(1), 20-27.  
<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.05.003>
- Andrango, E., & Changoluisa, A. (2021). *Evaluación del efecto alelopático y actividad plaguicida producido por el aceite esencial de anís estrellado (Illicium verum Hook. F)*. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.5676421>
- Aniya, Nomura, Y., Appiah, K. S., Fuerdeng, Suzuki, Y., Fujii, Y., & Xia, Q. (2022). Relationship between the Antioxidant Activity and Allelopathic Activities of 55 Chinese Pharmaceutical Plants. *Plants*, 11(19), 2.  
<https://doi.org/10.3390/plants11192481>
- Attique, R. (2012). *STUDIES OF ESSENTIAL OILS OF PLANT FAMILY UMBELLIFERAE* [FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN CHEMISTRY, UNIVERSITY OF THE PUNJAB].  
<http://pr.hec.gov.pk/jspui/bitstream/123456789/1599/1/2131S.pdf>
- Ávalos, A., & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Serie Fisiología Vegetal*, 2(3). [https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo\\_secundario\\_de\\_plantas.pdf](https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf)
- Azwanida, N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03).  
<https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>

- Balaram, P., Vidhya, N., Rojmathi, K., Revathi, E., Sowmiya, P., Sabarish, T., & Mahalingam, P. (2021). *ANTIBACTERIAL AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF CUMINUM CYMINUM (CUMIN) AND ILLICIUM VERUM (STAR ANISE) AGAINST CLINICAL PATHOGENS*. 10(6), 938-947.
- Bauer, K., Gros, L., & Sauer, W. (1992a). *Cromatografía de Capa Fina -Una Introducción-*. Mitterweger Werksatz.
- Bauer, K., Gros, L., & Sauer, W. (1992b). *Cromatografía de Capa Fina -Una Introducción-*. Mitterweger Werksatz.
- Bauer, K., Gros, L., & Sauer, W. (1992c). *Cromatografía de Capa Fina -Una Introducción-*. Mitterweger Werksatz.
- Bauer, K., Gros, L., & Sauer, W. (1992d). *Cromatografía de Capa Fina -Una Introducción-*. Mitterweger Werksatz.
- BYJU'S. (2020). *Brady's reagent (2,4-dinitrophenylhydrazine)*. <https://byjus.com/chemistry/2-4-dinitrophenylhydrazine/#:~:text=Does%20alcohol%20react%20with%20Brady's,whereas%20alcohols%20do%20not%20react.>
- Casas, G., & Veitía, N. (2008). *Aplicación de métodos de comparaciones múltiples en Biotecnología Vegetal*. 8(2), 67-71.
- Cheng, Y. (2012). Investigation of the antioxidant activity of *Illicium verum* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 318. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.983>
- da Silva, W. M. F., Kringel, D. H., de Souza, E. J. D., da Rosa Zavareze, E., & Dias, A. R. G. (2022). Basil Essential Oil: Methods of Extraction, Chemical Composition, Biological

Activities, and Food Applications. *Food and Bioprocess Technology*, 15(1), 1-27.

<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02690-3>

Damayanti, R., Tamrin, ., Eddyanto, ., & Alfian, Z. (2019). Illicium verum Essential Oil as Antibacterial Agent: *Proceedings of the 1st International Conference on Chemical Science and Technology Innovation*, 96-99.

<https://doi.org/10.5220/0008855200960099>

De Almeida, L. F. R., Frei, F., Mancini, E., De Martino, L., & De Feo, V. (2010). Phytotoxic Activities of Mediterranean Essential Oils. *Molecules*, 15(6), 4309-4323.

<https://doi.org/10.3390/molecules15064309>

Drinić, Z., Pljevljakušić, D., Živković, J., Bigović, D., & Šavikin, K. (2020). Microwave-assisted extraction of *O. vulgare* L. spp. hirtum essential oil: Comparison with conventional hydro-distillation. *Food and Bioproducts Processing*, 120, 158-165.

<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.01.011>

Fernandes, S. Y., de Araújo, D., Pontes, M. S., Santos, J. S., Cardoso, C. A. L., Simionatto, E., Martines, M. A. U., Antunes, D. R., Grillo, R., Arruda, G. J., & Santiago, E. F. (2023). Pre-emergent bioherbicide potential of *Schinus terebinthifolia* Raddi essential oil nanoemulsion for *Urochloa brizantha*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, 102598. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102598>

Gholivand, M. B., Rahimi-Nasrabadi, M., & Chalabi, H. (2009). Determination of Essential Oil Components of Star Anise ( *Illicium verum* ) Using Simultaneous Hydrodistillation–Static Headspace Liquid-Phase Microextraction–Gas Chromatography Mass Spectrometry. *Analytical Letters*, 42(10), 1382-1397.

<https://doi.org/10.1080/00032710902961081>

- Hazrati, H., Saharkhiz, M. J., Moein, M., & Khoshghalb, H. (2018). Phytotoxic effects of several essential oils on two weed species and Tomato. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 204-212. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.014>
- Hierro, J. L., & Callaway, R. M. (2021). The Ecological Importance of Allelopathy. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 52(1), 25-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-051120-030619>
- Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, Y., Chen, X., Guo, Z., Wang, Q., & Jiang, W. (2010). Antifungal Activity of the Essential Oil of *Illicium verum* Fruit and Its Main Component trans-Anethole. *Molecules*, 15(11), 7558-7569. <https://doi.org/10.3390/molecules15117558>
- Ibáñez, M. (2019). *Commercial essential oils: Sustainable alternatives in the agri-food industry* [Tesis Doctoral, Universidad de Valencia]. <https://mobiroderic.uv.es/bitstream/handle/10550/72358/TESIS%20DOCTORAL%20M.%20DOLORES%20IBA%C3%91EZ%20JAIME.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Inderjit, Evans, H., Crocoll, C., Bajpai, D., Kaur, R., Feng, Y.-L., Silva, C., Carreón, J. T., Valiente-Banuet, A., Gershenzon, J., & Callaway, R. M. (2011). Volatile chemicals from leaf litter are associated with invasiveness of a Neotropical weed in Asia. *Ecology*, 92(2), 316-324. <https://doi.org/10.1890/10-0400.1>
- Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. R. K., & Mahomoodally, M. F. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 89-105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.025>
- Khan, A., Zahiruddin, S., Ibrahim, M., Basist, P., Gaurav, Parveen, R., Umar, S., & Ahmad, S. (2021). Thin layer chromatography-mass spectrometry bioautographic

identification of free radical scavenging compounds and metabolomic profile of *Carica papaya* linn. Fruit and seeds using high-performance thin-layer chromatography, gas chromatography-mass spectrometry and ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Pharmacognosy Magazine*, 17(5), 21. [https://doi.org/10.4103/pm.pm\\_326\\_20](https://doi.org/10.4103/pm.pm_326_20)

Kriplit. (2023). *Serie eluotrópica*. Kriplit. <https://kriplit.com/serie-eluotrpica/>

LabsterTheory. (2021). *Baeyers test*. [https://theory.labster.com/baeyers-test-es/\\_info/](https://theory.labster.com/baeyers-test-es/_info/)

Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461770>

Liu, S., Lin, J., Wang, C., Chen, H., & Yang, D. (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, 114(2), 577-581. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.088>

López, M., Triana, J., Pérez, F., & Torres, M. (2005). *Métodos Físicos De Separación Y Purificación De Sustancias Orgánicas* [Universidad de Las Palmas de Gran Canaria]. <https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/436/1/494.pdf>

Luís, Â., Sousa, S., Wackerlig, J., Dobusch, D., Duarte, A. P., Pereira, L., & Domingues, F. (2019). Star anise (*Illicium verum* Hook. f.) essential oil: Antioxidant properties and antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii*. *Flavour and Fragrance Journal*, 34(4), 260-270. <https://doi.org/10.1002/ffj.3498>

Mahmood, N. (2015). *IDENTIFICATION METHODS OF UNKNOWN*. 2(2). <http://www.ijmrpsjournal.com/Issues%20PDF/Vol.2/February-2015/1.pdf>

- Maldonado, C., & Encalada, E. (2008). *EFFECTOS ALELOPÁTICOS DEL TOMATE RIÑÓN (Lycopersicon esculentum Mill.) EN CONDICIONES DE INVERNADERO*. [Trabajo de graduación previa a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario, Universidad del Azuay].  
<https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/451/1/06657.pdf>
- Marcos-Tejedor, F., González-García, P., & Mayordomo, R. (2021). Solubilization in vitro of tea tree oil and first results of antifungal effect in onychomycosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (English Ed.)*, 39(8), 395-398.  
<https://doi.org/10.1016/j.eimce.2021.07.001>
- Miranda, F., Iftitah, E., Nur, A., & Seta, F. (2022). *Continuous Essential Oil and Oleoresin Extraction from Star Anise (Illicium verum) by Hydrodistillation and Solvent Extraction*. <https://doi.org/10.21776/ub.igtj.2022.011.02.03>
- Naranjo, B. (2019). *Identificación De Los Componentes De Aceites Esenciales E Hidrodestilado De Especies Vegetales Por Cromatografía En Capa Fina*. [Guía Para Las Prácticas De Laboratorio, Taller O Campo]. Universidad de las Fuerzas Armadas- ESPE.
- Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, H., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e17129. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>
- Nedspice Group. (2020). *Star Anise*. <https://www.nedspice.com/product/star-anise/>
- Nguyen Tuyet Thi Ngoc, Trinh Nhi Yen, & Le Phung Thi Kim. (2021). Recovery Yield and Bioactivities Evaluation on Essential Oil and Ethanolic Extract of Star Anise (*Illicium*

verum Hook.f.). *Chemical Engineering Transactions*, 83, 205-210.

<https://doi.org/10.3303/CET2183035>

Olejar, K. J., Fedrizzi, B., & Kilmartin, P. A. (2015). Influence of harvesting technique and maceration process on aroma and phenolic attributes of Sauvignon blanc wine. *Food Chemistry*, 183, 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.040>

ONU. (2022). *La población mundial llegará a 8000 millones en 2022*. Noticias ONU.

<https://news.un.org/es/story/2022/07/1511502>

Orchard, A., & van Vuuren, S. (2017). Commercial Essential Oils as Potential Antimicrobials to Treat Skin Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1-92. <https://doi.org/10.1155/2017/4517971>

Patra, J. K., Das, G., Bose, S., Banerjee, S., Vishnuprasad, C. N., Pilar Rodriguez-Torres, M., & Shin, H. (2020). Star anise ( *ILLICIAM VERUM* ): Chemical compounds, antiviral properties, and clinical relevance. *Phytotherapy Research*, 34(6), 1248-1267.

<https://doi.org/10.1002/ptr.6614>

Peñarreta, J. (2016). *Estudio Químico- Biológico De Las Hojas De Conyza Bonariensis De Origen Ecuatoriano* [TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE QUÍMICO Y FARMACÉUTICO, Universidad de Guayaquil].

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18044/1/BCIEQ-T-0164%20Pe%C3%B1arreta%20Tivillin%20Juan%20Pablo.pdf>

Rifna, E. J., Ratish Ramanan, K., & Mahendran, R. (2019). Emerging technology applications for improving seed germination. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 95-108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.029>

- Ringuelet, J. A., & Viña, S. Z. (Eds.). (2013). *Productos naturales vegetales*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <https://doi.org/10.35537/10915/27885>
- Rivas, A., & Lárez, C. (2014). *Obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto del caruto (Genipa americana L.)*. <https://doi.org/10.13140/2.1.1160.3204>
- Rosselló, J., & Armit, J. (2016). *Manual práctico de plantas medicinales*. Redbook Ediciones.
- Sabry, B. A., Farouk, A., & Badr, A. N. (2021). Bioactivity evaluation for volatiles and water extract of commercialized star anise. *Heliyon*, 7(8), e07721. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07721>
- Said, A., Aoun, T., Elhaji, N., Marin, P., & Giweli, A. (2016). Allelopathic Effects on Seeds Germination of Lactuca Sativa L. Seeds and Antibacterial Activity of Thymus Capitatus Essential Oil from Zintan-Libya flora. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*, 10.
- Sánchez, O., Cano, L., & Sánchez, G. (2020). Aplicación De Métodos Químiométricos En La Investigación De Productos Naturales. En *Miscelánea Científica en México*. [https://www.researchgate.net/profile/Oscar-Antonio-Sanchez-Aguirre/publication/351735258\\_Aplicacion\\_de\\_Metodos\\_quimiometricos\\_en\\_la\\_investigacion\\_de\\_productos\\_naturales/links/60a69fdd45851522bc7bdf66/Aplicacion-de-Metodos-quimiometricos-en-la-investigacion-de-productos-naturales.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Oscar-Antonio-Sanchez-Aguirre/publication/351735258_Aplicacion_de_Metodos_quimiometricos_en_la_investigacion_de_productos_naturales/links/60a69fdd45851522bc7bdf66/Aplicacion-de-Metodos-quimiometricos-en-la-investigacion-de-productos-naturales.pdf)
- Sandoval, A. N., & Contreras, R. M. (2019). Efecto de las concentraciones del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de *Oreganum vulgare* “orégano” en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. *UCV-SCIENTIA*, 10(2). <https://doi.org/10.18050/RevUcv-Scientia.v10n2a5>

- Scopel, R., da Silva, C. F., Lucas, A. M., Garcez, J. J., do Espirito Santo, A. T., Almeida, R. N., Cassel, E., & Vargas, R. M. F. (2016). Fluid phase equilibria and mass transfer studies applied to supercritical fluid extraction of *Illicium verum* volatile oil. *Fluid Phase Equilibria*, 417, 203-211. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2016.02.042>
- Sharafan, M., Jaferník, K., Ekiert, H., Kubica, P., Kocjan, R., Blicharska, E., & Szopa, A. (2022). *Illicium verum* (Star Anise) and Trans-Anethole as Valuable Raw Materials for Medicinal and Cosmetic Applications. *Molecules*, 27(3), 650. <https://doi.org/10.3390/molecules27030650>
- Shin, S., & Lim, S. (2004). Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp. *Journal of Applied Microbiology*, 97(6), 1289-1296. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02417.x>
- Silva Sofrás, F. M., & Desimone, M. F. (2022). Entourage Effect And Analytical Chemistry: Chromatography As A Tool In The Analysis Of The Secondary Metabolism Of *Cannabis Sativa* L. *Current Pharmaceutical Design*, 29. <https://doi.org/10.2174/1381612829666221103093542>
- Singh, A., Weisser, W. W., Hanna, R., Houmgny, R., & Zytynska, S. E. (2017). Reduce pests, enhance production: Benefits of intercropping at high densities for okra farmers in Cameroon: Benefits of intercropping at high densities. *Pest Management Science*, 73(10), 2017-2027. <https://doi.org/10.1002/ps.4636>
- Singh, G., Songh, O., Rao, P., Singh, P., & Pandey, K. (2001). *Insecticidal activity of some volatile oils and monoterpenoids against white termite (Odontotermes obesus Rhamb)* (Vol. 1). Sugar Cane Int.
- Sivasothy, Y., Chong, W. K., Hamid, A., Eldeen, I. M., Sulaiman, S. F., & Awang, K. (2011). Essential oils of *Zingiber officinale* var. *Rubrum* Theilade and their antibacterial

activities. *Food Chemistry*, 124(2), 514-517.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.062>

Snyder, L. (1974). *Cromatogr* (Vol. 92).

Soler, J. (2013). *Anís*. [https://www.gastrosoler.com/pagina\\_nueva\\_169.htm](https://www.gastrosoler.com/pagina_nueva_169.htm)

Solis, I. (2015). *Etapas de la germinacion de una semilla*. Imagui.

<https://www.imagui.com/a/etapas-de-la-germinacion-de-una-semilla-para-colorear-ioebGbKny>

Symma, N., & Hensel, A. (2022). Advanced analysis of oligomeric proanthocyanidins: Latest approaches in liquid chromatography and mass spectrometry based analysis.

*Phytochemistry Reviews*, 21(3), 809-833. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09764-2>

Vallejo, Y., Barrios, L., & Anaya, J. (2021). *LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA: UNA ALTERNATIVA VIGENTE EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA*. 35(2).

Wagner, H., & Bladt, S. (2019). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas* (Second Edition).

[https://books.google.com.ec/books?id=8y2B\\_61iOhIC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=8y2B_61iOhIC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false)

Wang, G. W., Hu, W. T., Huang, B. K., & Qin, L. P. (2011). Illicium verum: A review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 136(1), 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.051>

Wang, Q., Jiang, L., & Wen, Q. (2007). Effect of three extraction methods on the volatile component of Illicium verum Hook. F. Analyzed by GC-MS. *Wuhan University*

*Journal of Natural Sciences*, 12(3), 529-534. <https://doi.org/10.1007/s11859-006-0080-7>

Wang, Z., Wang, L., Li, T., Zhou, X., Ding, L., Yu, Y., Yu, A., & Zhang, H. (2006). Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook. f. and *Zingiber officinale* Rosc. by improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(6), 1863-1868. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0778-6>

Xie, Y., Tian, L., Han, X., & Yang, Y. (2021). Research Advances in Allelopathy of Volatile Organic Compounds (VOCs) of Plants. *Horticulturae*, 7(9), 278. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090278>

Yousefi, M., Rahimi-Nasrabadi, M., Pourmortazavi, S. M., Wysokowski, M., Jesionowski, T., Ehrlich, H., & Mirsadeghi, S. (2019). Supercritical fluid extraction of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 182-193. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.038>

Yuan, L., Li, J.-M., Yu, F.-H., Oduor, A. M. O., & van Kleunen, M. (2021). Allelopathic and competitive interactions between native and alien plants. *Biological Invasions*, 23(10), 3077-3090. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02565-w>

Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

Zhang, W., Zhang, Y., Yuan, X., & Sun, E. (2015). Determination of Volatile Compounds of *Illicium verum* Hook. f. Using Simultaneous Distillation-Extraction and Solid Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Tropical*

*Journal of Pharmaceutical Research*, 14(10), 1879.

<https://doi.org/10.4314/tjpr.v14i10.20>

Zhu, X., Yi, Y., Huang, L., Zhang, C., & Shao, H. (2021). Metabolomics Reveals the Allelopathic Potential of the Invasive Plant *Eupatorium adenophorum*. *Plants*, 10(7), 1473. <https://doi.org/10.3390/plants10071473>

## Apéndices